

**Thrombelastographische Untersuchungen
über den Einfluss von Humanurin
auf die Plasmagerinnung**

Wolfgang Schroeder

1966

Aus der II. Medizinischen Universitätsklinik
Frankfurt am Main

Direktor : Professor Dr. med. J. Frey

THROMBELASTOGRAPHISCHE
UNTERSUCHUNGEN ÜBER DEN
EINFLUSS VON HUMANURIN AUF
DIE PLASMAGERINNUNG

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung des Doktorgrades
der gesamten Medizin

der hohen medizinischen Fakultät
der Johann-Wolfgang-Goethe-Universität
zu Frankfurt am Main

vorgelegt von
Wolfgang Schroeder
aus Gotha
Frankfurt/M. 1965



Dekan: Prof. Dr. med. W. Rotter
Referent: Prof. Dr. med. J. Jürgens
Koreferent: Prof. Dr. med. E. Heinz
Tag der mündlichen Prüfung: 21.3. 1966

Meinem V a t e r
zum Gedächtnis



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41546410_0009

I N H A L T

<u>A. Einleitung und</u>	Seite
<u>Problemstellung</u>	
1. Vorbemerkung zum Thema	1
2. Bedingungen der Zylinderbildung	
a) Klinische Beobachtungen	
b) Pathologisch-anatomische Beobachtungen	4
c) Anmerkungen zur bisher zitierten Literatur	7
3. Die "homogene" Gerinnungsform des Fibrins	9
 <u>B. Material und Methoden</u>	
1. Das Prinzip der Methoden	
a) Die Thrombelastographie (H a r t e r t (18a,b,c))	12
b) Der Flüssigkeitsretentionstest (F r ö h l i c h (15))	17
2. Die Materialien	
a) Die Gerinnungssubstrate	
b) Die Zusätze	18
 <u>C. Versuchsanordnung und Ergebnisse</u>	
1. Der Einfluß verschieden behandelten Harns auf die Plasmagerinnung	
a) Die Versuchsanordnung	21
b) Der Einfluß von nativem Harn	
c) Der Einfluß von dialysiertem Harn	25
2. Der Einfluß dialysierbarer Harnsubstanzen auf die Plasmagerinnung	
a) Die Versuchsanordnung	28
b) Der Einfluß auf die maximale Scherelastizität (me)	30
c) Der Einfluß auf die Reaktionszeit (r)	32
d) Der Einfluß auf die Flüssigkeitsretention der Gerinnsel	34
3. Der Einfluß der Urokinase (2, 35) auf die Plasmagerinnung	

4. Der Einfluß von HämolySAT auf Seite
die Plasmagerinnung

- a) Versuchsanordnung 37
- b) Der Einfluß von HämolySAT auf das TEG 39
- c) Der Einfluß von HämolySAT auf die
Flüssigkeitsretention der Gerinnsel

D. Diskussion

1. Diskussion der Ergebnisse unter ge-
rinnungsphysiologischen Gesichtspunkten

- a) Die Erhöhung der maximalen Scherelasti- 42
zität gerinnenden Plasmas durch Harn
- b) Die Erniedrigung der maximalen Scher- 44
elastizität gerinnenden Plasmas durch
Harn
- c) Der Einfluß des Harns auf die Reak- 47
tionszeit gerinnenden Plasmas
- d) Der Einfluß des HämolySates auf die 48
Plasmagerinnung

2. Diskussion der Ergebnisse unter dem
Gesichtspunkt der Zylinderbildung in
der Niere

- a) Zur Frage der Gerinnungsförderung und 50
Gerinnungshemmung durch Harn
- b) Über die Bedingungen zur Beteiligung 51
einer Plasmagerinnung an der Entstehung
der Harnzylinder

E. Zusammenfassung 54

F. Schrifttum 57

A. EINLEITUNG

UND PROBLEMSTELLUNG

1. Vorbemerkung zum Thema

Die Frage nach der Gerinnungsaktivität des Harns kann verschieden weit gefaßt werden. Einmal kann sie als rein gerinnungsphysiologisches Problem aufgefaßt werden, wobei es darauf ankommt, die gerinnungsaktiven Substanzen zu isolieren, zu charakterisieren und zu identifizieren. Auf diesem Gebiet sind die Forschungen schon ziemlich weit fortgeschritten (2, 7, 25, 26, 35).

Eine weitere Betrachtung ergibt sich jedoch, wenn die Frage nach dem Einfluß des Harns auf den Gerinnungsablauf des Plasmas in Zusammenhang mit der Zylinderbildung in der Niere gesehen wird. Hierbei ist es wesentlich, auch die Wirkungsweise des gesamten Harns zu untersuchen.

Die vorliegende Arbeit berücksichtigt vorwiegend die zweite Betrachtungsweise des Themas, die sich selbstverständlich die Ergebnisse der gerinnungsphysiologischen Untersuchungen zu Nutze macht.

2. Bedingungen der Zylinderbildung

a) Klinische Beobachtungen

Definition: Die Harnzylinder finden sich im mikroskopischen Bild des Harnsediments als kleine zylindrische Gebilde verschiedener morphologischer Erscheinung. Ihre Form weist auf ihren Entstehungsort hin, das Kanälchensystem der Nieren. Auf Grund ihres verschiedenen Aussehens unterscheidet man hyaline (glashelle), granulierten (dunkle), und Wachsylinder (gelbliche); auf Grund ihrer offen-

sichtlichen Bestandteile Erythrozyten-, Leukozyten-, Epithel- und Hämoglobinzyylinder.

Vorkommen: Im Harnsediment des klinisch Gesunden kommen in sehr unterschiedlichen Mengen nur hyaline Zylinder vor (1a). Unter bestimmten Bedingungen sind sie besonders regelmäßig nachweisbar, so nach körperlichen Anstrengungen (37) und teilweise damit zusammenhängend bei Zuständen, die zu einer Azidurie führen; außerdem bei leichten Stauungen und klinisch harmlosen Proteinurien.

Unter pathologischen Bedingungen können die hyalinen Zylinder auch beim Myelom, beim Ikterus (37) und bei fieberhaften Erkrankungen vorkommen, bei denen die Nieren ätiologisch nicht beteiligt sind. Nahezu spezifisch für Nierenerkrankungen sind jedoch die anderen Zylinderformen. A d d i s (1b) kommt auf Grund umfangreicher quantitativer Untersuchungen des Harnsediments zu einem ähnlichen Einteilungsprinzip der Nierenkrankheiten wie V o l h a r d und F a h r (hämorrhagisch, degenerativ, arteriosklerotisch). Innerhalb dieses Schemas zeichnen sich die "initialen" und "aktiven" hämorrhagischen und die degenerativen Nierenprozesse durch besonderen Zylinderreichtum aus.

Selten sind die Wachszyylinder, die nur bei lang bestehenden chronischen Nephritiden vorkommen. Erythrozytenzyylinder findet man bei Hämaturie, Hämoglobinzyylinder in der polyurischen Phase des akuten Nierenversagens, wenn es auf einem hämolytischen Geschehen beruht. Während der anurischen Phase sind sie nur durch die "intravitale Nierenbiopsie" (36) nachzuweisen.

Diagnostische Bedeutung: Differentialdiagnostische Schlüsse lassen sich innerhalb der Nierener-

krankungen an Hand der Zylinderformen kaum ziehen, da man es den hyalinen und granulierten Zylindern nicht ansieht, aus welchem Abschnitt des Nephrons das Material stammt, aus dem sie entstanden sind. Ihre diagnostische Bedeutung für das Harnsediment liegt vielmehr darin, daß z.B. bei einer Hämaturie ziemlich sicher zwischen einer Erkrankung der Nieren und der ableitenden Harnwege unterschieden werden kann (14a).

Material und Bildungsmechanismus: Die Blutkörperchenzylinder entstehen durch Zusammensintern oder Einlagern der Zellen in andere Zylinder.

Die Hämoglobinzylinder bestehen wahrscheinlich aus gefällttem Hämoglobin (43). Für den Durchtrittsort ins Nephron hält man wie bei den Blutzellen die Glomerula.

Die Epithelzylinder kommen als solche kenntlich meist nur dann vor, wenn sich größere Epithelteile der Tubuli oder Sammelröhren gelöst haben und nach kurzer Zeit ausgeschwemmt im Harn erscheinen.

Die granulierten Zylinder leitet man von den Tubulusepithelien ab, deren zusammengesinterten Zelldetritus sie darstellen. So wird auch das Auftreten von Fettkörnchen in diesen Zylindern erklärt.

Über das Material der Wachszylinder finden sich in der Literatur kaum Angaben. J. F r e y (12) führt ihre Entstehung auf eine "stärkere" Denaturierung des Eiweißes zurück, das sonst auch zur Bildung von hyalinen Zylindern führen kann. Die Wachszylinder sind besonders säurebeständig im Verhältnis zu anderen Zylinderarten.

Allgemein wird heute die Ansicht vertreten, daß die hyalinen Zylinder aus koaguliertem Eiweiß bestehen, das hauptsächlich durch die Glomerula ins

Tubulussystem gelangen soll. Diese Ansicht beruht auf zahlreichen Beobachtungen, bei denen eine Zylindrurie mit einer Proteinurie parallel geht (Myelom, Schwangerschaftsproteinurie usw.). Dies ist allerdings nicht regelmäßig der Fall. Die Koagulation im physiologischen wie im pathologischen Fall erklärt man mit der die Bildung der hyalinen Zylinder fördernden sauren Reaktion des Harns, wobei nach J. F r e y (12) eine Fibrinogen- Fibrin-Gerinnung beteiligt ist. Für die Koagulation im pathologischen Fall führt F. H o f f (21) außerdem noch die krankhaft veränderten und daher benetzbaren Tubulusepithelien als die Koagulation einleitenden Faktor an.

Zum chemisch-physikalischen Verhalten wird angeführt, daß sich die hyalinen Zylinder in Essigsäure (20) und stärker alkalischem Harn (1a, 14b) sowie bei Polyurie auflösen (14b).

b) Pathologisch-anatomische Beobachtungen

Die pathologisch-anatomischen Untersuchungen zum Zylinderproblem sind sämtlich älteren Datums. Im Mittelpunkt der Diskussion steht dort die Entstehung und chemische Natur der hyalinen Zylinder. Die Entstehung der anderen Zylinderarten gilt als weitgehend geklärt.

Eine ausführliche Zusammenstellung der Literatur findet sich bei Q u e n s e l (38). Hier seien nur die wichtigsten Autoren, ihre Methoden und Ergebnisse genannt.

Menschliches Sektionsmaterial untersuchen E r n s t (10), L u b a r s c h (33), Q u e n s e l (38) u.a. :

E r n s t färbt mit der Weigertschen Fibrinfär-

bung netzartige Strukturen in den Glomerula und homogene Massen in den Tubuli kranker Nieren. Er schließt daraus auf die Fibrinnatur der hyalinen Zylinder, wobei das Fibrinogen durch die Glomerula ins Nephron gelangen soll.

L u b a r s c h vergleicht die Weigert-Färbung mit der Russel-Fuchsin-Färbung. Beide Farbstoffe färben hyaline Massen in den Tubuli, Russel-Fuchsin färbt aber z.B. nicht das Fibrin bei der fibrinösen Pneumonie. Dazu zeigt er, daß die Weigert-Färbung nicht spezifisch für Fibrin ist, sondern auch Mucine und das Kolloid der Schilddrüse anfärbt. Fädiges Fibrin in den Kapselräumen der Glomerula findet er nur bei akuten Entzündungen der Niere, die hyalinen Massen in den Tubuli vorwiegend bei "degenerativen Vorgängen". Den Übergang von fädigem Fibrin in homogenes, den E r n s t annimmt, hält L u b a r s c h daher für sehr problematisch.

Q u e n s e l färbt mit Kadmium-Methylenblau das Harnsediment und den histologischen Schnitt. Die Zylinder im Sediment zeigen dabei gleiches färberisches Verhalten wie Tropfenbildungen in den Tubulusepithelien. Er nimmt daher einen Sekretionsmechanismus des Zylindermaterials an.

Tierversuche, bei denen durch Einengung der Nierenvenen eine künstliche Stauung erzeugt wird, stellen I s r a e l (23), B u r m e i s t e r (6) u.a. an :

I s r a e l färbt mit der Weigert-Färbung homogene Massen in den Tubuli an, die er ebenso deutet wie E r n s t (10) (s.o.).

B u r m e i s t e r kann diese Ergebnisse bei Anwendung gleicher Methoden nicht bestätigen.

Tierversuche, bei denen durch verschiedene Gifte Nierenerkrankungen experimentell nachgeahmt werden sollen, stellen B u r m e i s t e r (6) (mit Chromat), G r o ß (17) (mit Sublimat, Chromat, Uran, Kantharidin), S u z u k i (47) (mit den bei G r o ß genannten Substanzen und Karmin) u.a. an:

B u r m e i s t e r färbt mit der Weigert-Färbung und weist nach, daß das fädige Fibrin in den Glomerula (vgl. E r n s t, S. 5) zeitlich sehr viel später auftritt als das "Weigert-positive" Material in den Tubuli, was darauf hindeutet, daß dieses nicht aus jenem entstanden ist. Mit der Altmann-Färbung färbt er außerdem Tropfen in den Tubulusepithelien und Granula in den Tubuluslichtungen, die in homogene Zylinder übergehen. Er nimmt daher eine Sekretion des Zylindermaterials an.

G r o ß färbt intravital mit Toluidinblau, das er den Tieren kurz vor der Tötung einspritzt. Er wertet neben dem histologischen Bild auch Funktionsprüfungen der Nieren (Konzentration, Verdünnung) während der Vergiftungsphase aus und kontrolliert das Sediment. Das Zylindermaterial stammt nach seinen Beobachtungen bei Sublimat- und Uranvergiftung vorwiegend aus den Tubuli, bei Kantharidin- und Chromatvergiftung auch aus den Glomerula.

S u z u k i kommt zu ähnlichen Ergebnissen wie G r o ß. Er erwähnt noch die Karminvergiftung, bei der Eiweiß hauptsächlich durch die Glomerula ins Tubulussystem gelangt.

Versuche, bei denen hohe Dosen Eiweiß an Tiere verabreicht werden, stellen J a c k s o n (24) und S h i m a m i n e (43) an:

J a c k s o n belegt im histologischen Bild

fotografisch einen Sekretionsvorgang an den Tubulusepithelien der Rattenniere und den Übergang des sezernierten Materials in homogene Zylinder. Beim Menschen nimmt er für die chronischen Nephritiden einen ähnlichen Mechanismus der Zylinderbildung an.

S h i m a m i n e erhält nach Eieralbumingabe an Kaninchen zwar eine Albuminurie aber auch nach diätetischer Azidurie keine Zylinder.

c) Anmerkungen zur bisher zitierten Literatur

Drei Fragen ist man bei der Aufklärung der Zylinderentstehung nachgegangen, und zwar der nach dem Durchtrittsort ins Nephron, der nach der chemischen Natur und der nach dem Koagulationsmechanismus des Zylindermaterials.

Für die hyalinen Zylinder konnten diese drei Fragen bisher noch nicht vollständig geklärt werden :

Unsicherheit herrscht über die Herkunft des Zylindermaterials im Nephron. Die Untersuchungen der oben genannten Autoren, die darüber Auskunft geben könnten, beruhen fast alle auf dem Nachweis gleichen färberischen Verhaltens von Zylindern und Tropfenbildungen in den Tubulusepithelien beziehungsweise in den Glomerula. Dabei werden die Tropfenbildungen in den Tubulusepithelien von den genannten Autoren als Ausdruck einer Sekretion angesehen. Nach neueren Anschauungen jedoch kann bei derartigen Tropfenbildungen in den Tubulusepithelien nicht ohne weiteres entschieden werden, ob sie Ausdruck eines Sekretions- oder Resorptionsvorgangs sind (14c). Auch das Auftreten der Zylinder distal von den Tropfenbildungen im Tubulusepithel beweist die Sekretion nicht.

Abgesehen von der Unsicherheit bei der Deutung der pathologisch-histologischen Befunde scheinen auch die Untersuchungen von G r o ß (17) und S u z u k i (47) zu zeigen, daß die Herkunft des Zylindermaterials im Nephron für die Zylinderentstehung selbst weniger bedeutend ist.

Man ist sich darüber einig, daß die hyalinen Zylinder aus Eiweiß bestehen, kann aber auch mit der Azidurie den Koagulationsmechanismus nicht befriedigend erklären, weil man über die Art des Eiweißes keine genaue Kenntnis hat. Die Versuche von S h i m a m i n e (43) und die Beobachtung, daß nicht jede Proteinurie mit einer Zylindrurie einhergeht, können darauf hindeuten, daß die Koagulation von der Art des Eiweißes entscheidend abhängt. Hieraus wird die Vermutung verständlich, daß bei der Koagulation des Zylindermaterials eine Fibrinogen-Fibrin-Gerinnung beteiligt ist. Ungeklärt bleibt allerdings dabei, ob und wie das Fibrinogen (Molgew. über 300 000) in den Glomerula filtriert wird, da doch nach dem gegenwärtigen Wissen das Glomerulumfilter für Eiweißkörper mit höherem Molekulargewicht als 50 000 dicht ist.

In diesem Zusammenhang muß auch bedacht werden, daß dem Stress und der Azidurie bzw. der Azidose als Ursache des Übertritts koagulationsfähigen Plasmamaterials in die Tubuli große Bedeutung zukommt. Darauf weisen nicht nur die genannten klinischen Beobachtungen hin (s. S. 1), sondern auch Experimente von M a r k e r t (34). Er verabreichte nierengesunden Menschen peroral Salmiak, was bei den Personen zu Azidose, Azidurie, Proteinurie, Hämaturie, Zylindrurie und vermehrter Harnstoff- und Chlorausscheidung führte.

3. Die "homogene" Gerinnungsform des Fibrins

In der vorliegenden Arbeit soll untersucht werden, welche Bedingungen für eine Fibrinogen-Fibrin-Gerinnung im Harnmilieu bestehen. In diesem Zusammenhang verdienen zwei oben noch nicht genannte Argumente gegen die Fibrin-Theorie (E r n s t und I s r a e l, s. S. 4/5) der hyalinen Zylinderbildung Beachtung :

1.) B u r m e i s t e r (6), v. H ö s s l i n (22), L u b a r s c h (33) u. a. berufen sich auf Versuche von L e h m a n n (29), nach denen der Harn eine Fibrinbildung in einem "fibrinogenhaltigen Transsudat" verhindert, während im Leerversuch mit Wasser statt Harn Fibrin entsteht.

2.) In Zusammenhang mit der Frage, ob es einen Übergang von fädigem in homogenes Fibrin gibt (vgl. S. 4), diskutieren W e i g e r t (48) und B u r m e i s t e r (6) eine "homogene" bzw. "klumpige, hyaline" Gerinnungsform des Fibrins. B u r m e i s t e r hält die Bedingungen für diese Gerinnungsform des Fibrins bei der Entstehung der hyalinen Zylinder auf Grund seiner heute überholten Vorstellung vom Gerinnungsmechanismus für nicht gegeben. W e i g e r t kommt zu demselben Schluß, da die "homogene" Gerinnung seiner Meinung nach auf einem Überschuß der plasmatischen gegenüber den Serumbestandteilen beruhe, sich aber im Harn hauptsächlich Serumbestandteile fänden.

Mit dem ersten Punkt wird sich die vorliegende Arbeit eingehend zu befassen haben. Das Stichwort "homogene" Gerinnung bietet dabei einen geeigneten Ausgangspunkt.

Als "homogene" oder "hyaline" Gerinnung können auch Gerinnungsformen des Fibrins bezeichnet werden, die in der jüngeren Zeit von verschiedenen Autoren beschrieben wurden. So fanden E b b e c k e und K n ü c h e l (9) und später S h u l m a n und Mitarbeiter (45) mit der Streulichtmessung eine Abnahme der Streulichtintensität bei Gerinnseln, die bei höheren Kochsalzkonzentrationen bzw. bei höherer Ionenstärke, pH um 6 und speziellen Verbindungen wie Harnstoff und Hexamethylenglycol entstehen. Sehr ähnliche Einflüsse auf die Gerinnung konnte F r ö h l i c h (15) auch mit Harn nachweisen: Die Gerinnsel, die in Gegenwart von Harn entstehen, sind charakterisiert durch geringere Opaleszenz (Streulichtintensität), geleeartige Konsistenz und ein hochgradig erhöhtes Wasserbindungsvermögen, wenn das Gerinnsel auf Filterpapier gebracht wird (15). S h u l m a n und Mitarbeiter und im Anschluß an diese F r ö h l i c h deuteten ihre Ergebnisse dahingehend, daß der pH, die Ionenstärke sowie Harnstoff, Hexamethylenglycol und Harn den Polymerisationsmodus des Fibrins ändern.

Es lag nun nahe, den Einfluß des Harns auf die Gerinnung auch mit der Thrombelastographie zu untersuchen, insbesondere ausfindig zu machen, welche Faktoren im Harn für die Gerinnungsmodifikation verantwortlich sind.

Außerdem stellte sich die Frage, wie sich die einzelnen gerinnungsaktiven Substanzen des Harns in ihrer Wirkung gegenseitig beeinflussen. Es war von Interesse, das Wirkungsverhältnis "gerinnungsfördernder" und "gerinnungshemmender" Harnsubstanzen bei verschiedener Harnkonzentration

zu prüfen, um daraus Rückschlüsse auf die Bedingungen zur Beteiligung einer Plasmagerinnung an der Zylinderbildung zu ziehen.

B. MATERIAL UND METHODEN

1. Das Prinzip der Methoden

a) Die Thrombelastographie (H a r t e r t (18 a, b, c))

Die Thrombelastographie ist an zwei Eigenschaften des geronnenen Blutes gebunden, zum einen an die Eigenschaft, an Oberflächen mit geringer Benetzbarkeit zu haften, zum anderen an die Eigenschaft, eine gewisse Elastizität zu besitzen. Die Elastizität wird in Form von Scherelastizität fotokymographisch während des ganzen Gerinnungsablaufs registriert.

Das zuuntersuchende Material (0,35 ml Blut oder 0,3 ml Zitratblut bzw. -plasma mit 0,05 ml 6/40 m CaCl_2) befindet sich in einer kleinen zylindrischen Küvette (V2A-Stahl, $\varnothing = 8$ mm), der in einen Sockel eingesetzt eine regelmäßige Hin- und Herdrehung um die Hochachse (ca. 4015° in 9 Sek.) und eine konstante Temperatur von 37°C verliehen wird. In die Küvette taucht zentrisch ein Kolben (V2A-Stahl, $\varnothing = 6$ mm) ein, der torsionselastisch aufgehängt und mit dem Registrierspiegel des fotokymographischen Systems verbunden ist. Bildet sich nun zwischen Kolben und Küvettenwand ein Fibringerüst, so wird es die Hin- und Herdrehung der Küvette mit zunehmender Festigkeit auch zunehmend vollständig auf den Kolben übertragen. Der Registrierspiegel, der die Bewegung des Kolbens vollständig mitmacht, lenkt den auf ihn geworfenen Lichtstrahl entsprechend ab, so daß sich auf dem Fotopapier (transportiert mit 2 mm pro Minute) eine dichtgedrängte Zickzacklinie

darstellt. Die Spitzen dieser Zickzacklinie imponieren auf dem Fotopapier als Punkte, da die Hin- und Herdrehung des Kolbens in ihren Endstellungen für ca. 1 Sekunde stagniert. Die Punkte reihen sich zu zwei zueinander symmetrischen Kurven auf (Abb. 1).

Meßgrößen der Kurve (Abb. 1):

$\underline{r} = E + x/2$ ist die Reaktionszeit in Minuten, die vergeht von der Entnahme des Venenblutes (Spontan-TEG) oder der Rekalzifizierung des Zitratplasmas oder Zitratblutes bis zum Beginn der Gerinnung ($a = 1 \text{ mm}$). Die Einfüllzeit E bestimmt man mit der Stoppuhr bis zur Einschaltung der fotokymographischen Registrierung. Die Strecke x mißt man in mm und erhält nach Division durch zwei die Zeit bis zum Gerinnungseintritt, da entsprechend der Transportgeschwindigkeit des Fotopapiers $1 \text{ mm } 1/2 \text{ Minute}$ darstellt.

$\underline{m_e} = \frac{100 - m_a}{100 - m_a}$ ist die maximale Scherelastizität. Sie errechnet sich nach der angegebenen Formel aus dem in mm gemessenen Wert für m_a .

Auf die Auswertung der Meßgrößen für die Gerinnungselbildungszeit ($k_1 = 1/2y$; $k_2 = 1/2z$) wurde verzichtet.

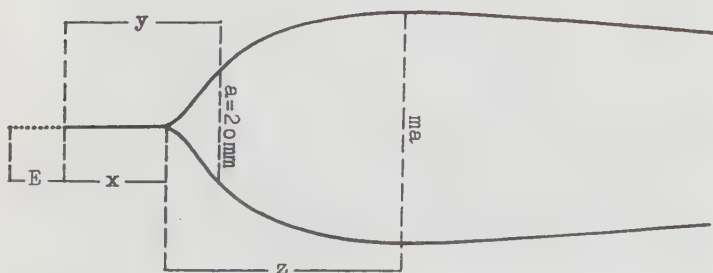


Abb. 1

Deutung der Kurve

Reaktions- und Gerinnsselbildungszeit entsprechen qualitativ dem, was mit anderen Methoden als Gerinnungszeit bestimmt wird. Deshalb richtete sich in dieser Arbeit das Hauptaugenmerk auf die Beeinflussbarkeit der maximalen Scherelastizität, des me -Wertes.

In Anlehnung an K ö p p e'l (27) soll die Deutung von me im folgenden aus der Modellvorstellung der Umwandlung von Fibrinogen in Fibrin erfolgen.

Der erste Polymerisationsschritt der Umwandlung von Fibrinogen in Fibrin besteht darin, daß sich die Fibrinogenfäden (Fadenmoleküle) durch Verknüpfung ihrer Enden ("polare Kettenassoziation") zu "intermediären Fibrinogenketten" aufreihen, die sich im zweiten Polymerisationsschritt durch Aneinanderlagerung ihrer Längsseiten ("strukturhomologe Lateralassoziation") zu Fibrinfasern ausbilden. Die stetig wachsenden Fibrinfasern überkreuzen sich schließlich an vielen Stellen ("initiale punktförmige Vereinigungen"). Dort, wo der Kreuzungswinkel 45 Grad nicht überschreitet, beginnt der dritte Polymerisationsschritt durch laterale Aneinanderlagerung der Fibrinfasern zu Fibrinfaserbündeln ("strukturhomologe Lateralassoziation"). Da nun eine Fibrinfaser von mehreren anderen gekreuzt wird, und diese wieder mit anderen punktförmige Vereinigungen eingehen, die zur Lateralassoziation führen, wird die Formierung eines räumlichen Gerüstes aus sich vielfach verzweigenden Fibrinfaserbündeln leicht vorstellbar.

Bildet sich das Fibringerüst nun zwischen zwei Oberflächen, an denen es gut haftet, wie im Thrombelastographen zwischen Kolben und Küvettenwand, muß die "strukturhomologe Lateralassoziatio~~n~~" des dritten Polymerisationsschrittes zu einer wachsenden Spannung im Gerinnsel und damit zu einer wachsenden Ver~~o~~pannung von Kolben und Küvettenwand führen. Wenn die Spannung einen bestimmten Wert überschreitet, wird sie in der Scherelastizität des Thrombelastogramms registrierbar.

Setzt man eine bestimmte Fibrinogenkonzentration voraus, so resultiert die Größe der Spannung bzw. der Scherelastizität aus dem Verhältnis der Kräfte der Lateralassoziatio~~n~~ zu dem Widerstand, der ihnen in den spezifischen Dehnungs- und Biegungseigenschaften der Fibrinfasern und durch die Wandhaftung des Gerinnsels entgegengebracht wird. Dieses Verhältnis bestimmt dann den Grad des dritten Polymerisationsschrittes und damit auch den Polymerisationsgrad des Fibrins.

Die Größe der Kräfte der Lateralassoziatio~~n~~ ist in erster Linie von der Zahl der funktionstüchtigen Thrombozyten abhängig, die Größe des spezifischen Dehnungs- und Biegungswiderstandes der Fibrinfasern und -faserbündel von der optimalen Konzentration der verschiedenen Retraktionsfaktoren. Die Wandhaftung der Gerinnsel wird im Thrombelastogramm als konstant und unüberschreitbar hoch vorausgesetzt. Für Abrisse der Gerinnsel von der Küvettenwand kann eine verminderte Wandhaftung nur dann verantwortlich gemacht werden, wenn sie nicht nach Überschreiten eines hohen

me- Wertes erfolgen.

Im thrombozytenarmen Plasma gestaltet sich die Polymerisation grundsätzlich genauso wie im thrombozytenreichen. Allerdings sind die Kräfte der Lateralassoziation des dritten Polymerisations-schrittes im Verhältnis zu dem spezifischen Dehnungs- und Biegungswiderstand der Fibrinfasern im thrombozytenarmen Gerinnsel klein. Es resultiert ein kleiner me-Wert.

Die Retraktion beruht nach der Modellvorstellung von K ö p p e l (27) darauf, daß die Kräfte der Lateralassoziation größer werden als die Wandhaftung des Gerinnsels. Das führt dann zu der als Retraktion bezeichneten Loslösung des Gerinnsels von der Behälterwand. Für ein normales Ausmaß der Retraktion ist neben der Anwesenheit von funktionstüchtigen Thrombozyten in ausreichender Menge auch die verschiedener Retraktionsfaktoren aus Plasma oder Serum notwendig. Wie oben erwähnt, beeinflussen diese die spezifischen Dehnungs- und Biegungseigenschaften der Fibrinfasern. Die Retraktion äußert sich also nicht im me-Wert, sie beruht aber auf den gleichen Kräften wie dieser. Der Unterschied der beiden Größen liegt im verschiedenen Verhältnis der sie verursachenden Kräfte (Lateralassoziation) zur Wandhaftung des Gerinnsels.

Der me-Wert gibt also über Einflüsse auf die Gerinnung bei konstanter Fibrinogenkonzentration in den Vergleichsansätzen nur dann Auskunft, wenn der Polymerisationsgrad des Fibrins beeinflußt wird, d.h. das Verhältnis der Kräfte der Lateralassoziation zum spezifischen Dehnungs- und Biegungswiderstand. Welche dieser beiden Komponenten durch die Einwirkung einer Substanz verändert wird, läßt sich an Hand des me-Wertes

allein nicht entscheiden. In einigen Fällen kann hier der Vergleich mit dem Retraktionsansatz im Glas nähere Auskunft geben. Der Vergleich des Einflusses einer Substanz auf die Gerinnung plättchenreichen und plättchenarmen Plasmas zeigt nur, ob der Einfluß über die Plättchen zustande kommt.

b) Der Flüssigkeitsretentionstest (F r ö h l i c h (15))

Es werden Gerinnsel aus verdünntem, plättchenarmem Zitratplasma hergestellt und nach der vollständigen Festigung (bei Kippen des Reagenzglas) auf dickes Filterpapier gebracht. Die Zeit bis zum völligen Aufsaugen der im Gerinnsel eingeschlossenen Flüssigkeit wird mit der Stoppuhr bestimmt. Die Methode dient der Charakterisierung einer durch Harn hervorgerufenen Gerinnungsmodifikation (vgl. S. 10).

Leeransatz: 0,2 ml Plasma, 2,3 ml NaCl phys., 0,5 ml CaCl_2 (m/40). Bei den Ansätzen mit Harn wurde jeweils ein Teil der NaCl phys. durch Harn ersetzt. Die Mengenverhältnisse sind gegenüber den von F r ö h l i c h - (15) angegebenen modifiziert.

2. Die Materialien

a) Die Gerinnungssubstrate

Zitratplasma: Das plättchenreiche Plasma wurde durch Punktion einer Armvene mit einer Kanüle Nr. 1 und einer Rekordspritze (Glaskolben) gewonnen, deren Innenfläche durch Vaseline unbenetzbar gemacht worden war. Dabei wurden 9 ml Venenblut jeweils mit 1 ml einer 3,8 %igen Natriumzitratlösung aufgezo-gen. Das so erhaltene Zitrat-

blut wurde dann in einem silikonierten Röhrchen 5 Minuten bei 1000 U/Min. zentrifugiert. Auf eine Trennung des überstehenden Plasmas von den sedimentierten Blutkörperchen wurde verzichtet, um das Plasma nicht unkontrolliert benetzbaren Oberflächen auszusetzen. Das plättchenarme Plasma wurde aus Zitratblut durch Zentrifugieren von 10 Minuten bei 15 000 U/Min. gewonnen.

Das Plasma stammte von klinisch gesunden Männern, die zum Zeitpunkt der Venenpunktion nüchtern waren.

b) Die Zusätze

Harn: Der native Morgenharn klinisch gesunder Männer wurde 15 Minuten bei 2000 U/Min. zentrifugiert und in dieser Form nach spätestens zwei Stunden verwendet. Der pH-Wert wurde entweder mit einem Beckmann-pH-meter oder mit Spezialindikatorpapier, (Merck) gemessen und, wenn nötig, durch Zugabe von 1 N NaOH auf pH 7,3 eingestellt. Dazu waren bei 50 ml nativen Harns mit einer Dichte von 1,030 und einem pH von 6,2 etwa 1,5 ml 1 N NaOH notwendig. Meistens gelang es jedoch den pH-Wert des Nativharns durch diätetische Maßnahmen über 7 zu halten. Das spezifische Gewicht des Harns wurde mit einem "Urometer" bestimmt.

Die Dialyse des Harns erfolgte in der Weise, daß die Konzentration aller dialysierbaren Substanzen auf ein Tausendstel sank. So wurden z.B. 10 ml nativer Harn nach dem Zentrifugieren (15 Min. bei 2000 U/Min.), der Einstellung des pH-Wertes auf 7,3 und der Messung des spezifischen Gewichtes in einem Dialyseschlauch (Kalle) 16 Std. gegen 10 l einer 0,86 %igen NaCl-Lösung dialysiert.

Dabei wurde der Dialyseschlauch durch einen niedertourigen Motor in dauernder Bewegung gehalten.

Die Dialyse gegen Leitungswasser hat sich als unangebracht erwiesen, da durch den Kalziumgehalt des Leitungswassers während der Dialyse ein Ausfall der Harnphosphate erfolgt, und die Reaktionszeiten durch die veränderte Kalziumkonzentration im Dialyseharn unkontrollierbar beeinflusst werden.

Sollte der Dialyseharn lyophilisiert werden, erfolgte die Dialyse entsprechend gegen destilliertes Wasser. Die Trockensubstanz wurde dann in dem Volumen einer 0,86 %igen NaCl-Lösung aufgelöst, das $\frac{1}{5}$ der Menge des zugrunde liegenden Nativharns entsprach.

Hämolysat (in Anlehnung an Quick (39a)):

Wie oben angegeben erhaltenes Zitratblut wurde 5 Minuten bei 1000 U/Min. zentrifugiert, das Plasma abpipettiert, durch NaCl phys. ersetzt, die Blutkörperchen aufgeschwemmt und wieder zentrifugiert. Abpipettieren, Auffüllen mit NaCl phys. und Zentrifugieren wurden etwa viermal wiederholt. Zuletzt wurde 10 Minuten bei 2000 U/Min. zentrifugiert, abpipettiert und mit einer Lösung von 0,2 g Digitonin in 100 ml NaCl phys. (DAB 6) auf $\frac{9}{10}$ des ursprünglichen Zitratblutvolumens aufgefüllt. Zur Gefrierhämolyse wurde statt der Digitonin-Lösung reine NaCl phys. verwendet und die Aufschwemmung der Blutkörperchen eine Viertelstunde im Spiritusbad bei -30°C eingefroren. Beide Hämolysate wurden nach der Hämolyse 10 Minuten bei 3000 U/Min. zentrifugiert. Im Gegensatz zum

Gefrierhämolysat ließ sich beim Digitoninhämolysat das Erythrozytenstroma abzentrifugieren.

Dialysierbare Substanzen des Harns: Von den unten aufgezählten Substanzen wurde der Einfluß auf TEG und Flüssigkeitsretention untersucht. In den Salzen findet sich eine Anzahl der mengenmäßig wichtigsten Ionen des Harns. Aus der nach der Literatur (30, 41) errechneten Mol-Ausscheidung der Ionen in 24 Std. erfolgte unter Berücksichtigung der Wertigkeit die Zusammenstellung von Anionen und Kationen zu Salzen. Durch Multiplikation mit dem Molekulargewicht ergab sich dann die Grammenge der einzelnen Ionen, aus denen die der Salze addiert wurde: K_2SO_4 8,8 g, Na_2HPO_4 5,5 g, NaH_2PO_4 1,0 g, NH_4HCO_3 0,5 g. Diesen Salzmengen entspricht in 24 Std. eine Ausscheidung von 35 g Harnstoff und 1,5 g Kreatinin.

Bezieht man diese Mengen auf 1000 ml, so ergeben sich für die einzelnen Substanzen Konzentrationen, die denen eines sehr hochgestellten Harnes entsprechen. Zur Herstellung derartiger Lösungen wurden die Präparate der Firma Merck verwendet.

C. V E R S U C H S A N O R D N U N G

U N D E R G E B N I S S E

1. Der Einfluß verschieden behandelten Harns auf die Plasmagerinnung

a) Die Versuchsanordnung

Die Ansätze der thrombelastographischen Untersuchungen bestanden aus dem konstanten Plasmaanteil von 0,17 ml, aus 0,13 ml Harn verschiedener Konzentration und Präparation und aus 0,05 ml einer 6/40 molaren CaCl_2 -Lösung. Die Anteile des Ansatzes wurden in dieser Reihenfolge in die Küvette pipettiert. Als Beginn der Reaktionszeit galt die Zugabe des Harns, die Rekalzifizierung erfolgte 30 Sek. später. Danach wurde der Küvetteninhalt durchmischt, indem man den Kolben fünfmal kurz in die Küvette eintauchen ließ und wieder herauszog. Gegen Austrocknung des Ansatzes schützte wie üblich das Übersichten mit Paraffinöl. Die Verdünnungsreihen des Harns wurden mit steriler physiologischer Kochsalzlösung DAB 6 hergestellt.

b) Der Einfluß von nativem Harn

Es wurde der Einfluß der Konzentration des Nativharns auf die Gerinnung plättchenreichen und plättchenarmen Plasmas verglichen. Abb. 2 zeigt zwei Versuchsserien (I, II), deren Werte mit zwei Plasmen aus Zitratblut jeweils einer Venenpunktion und der Verdünnungsreihe jeweils eines Harns erhalten wurden. Plasma Ia und Ib stammen von Zitratblut, das kurze Zeit nach der

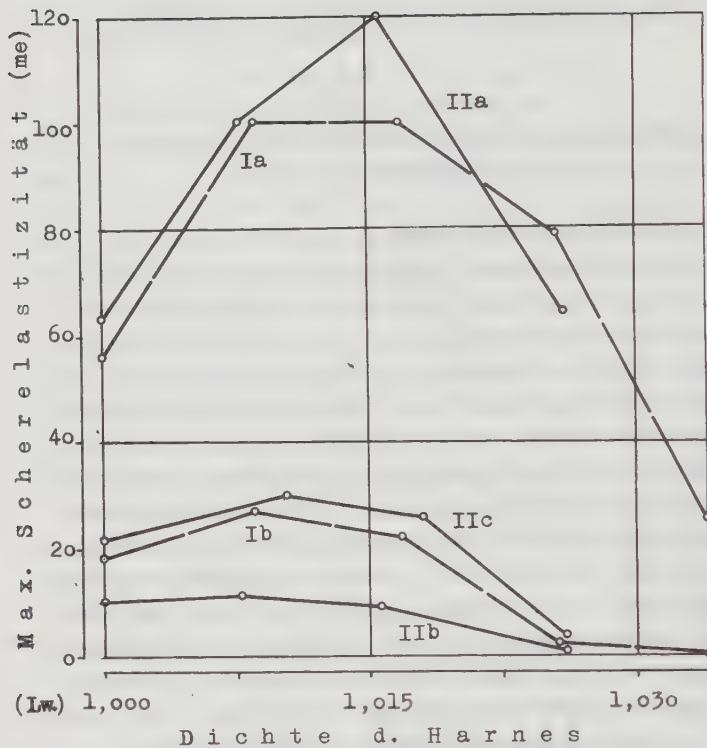


Abb. 2 : Der Einfluß von nativem Harn auf den me - Wert gerinnenden Plasmas.

Plasma: Ia, IIa - plättchenreich
 Ib, IIb - plättchenarm
 IIc - Mischung aus 1 Teil Plasma IIa und 5 Teilen Plasma IIb.

Harn: I - Dichte unverdünnt 1,034
 II - Dichte unverdünnt 1,026.

Ansatz: 0,17 ml Plasma, 0,13 ml Harn, 0,05 ml CaCl_2
 (6/40 m).²

Leerwert: 0,13 ml NaCl phys. statt Harn.

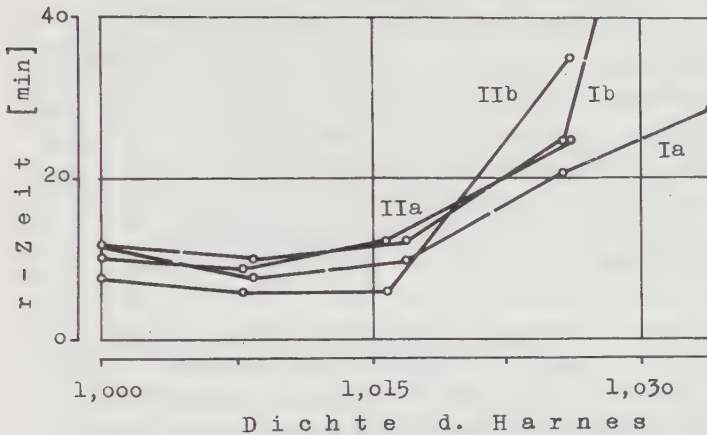


Abb. 3 : Der Einfluß von nativem Harn auf die Reaktionszeit (r) gerinnenden Plasmas.

Erklärung : siehe Abb. 2 .

Venenpunktion plättchenreich (Ia) bzw. plättchenarm (Ib) zentrifugiert wurde (s.S. 18). Entsprechend wurden Plasma IIa und IIb gewonnen, jedoch erfolgte das Zentrifugieren nicht kurze Zeit nach der Venenpunktion, sondern erst nach fünf Stunden. Daraus erklärt sich die relative Plättchenarmut gegenüber Plasma Ib, da während dieser Zeit die Kräfte, die einer Sedimentation entgegenwirken, weitgehend schwinden. Zu Plasma IIc wurden ein Teil Plasma IIa und fünf Teile Plasma IIb miteinander gemischt. Auf der Abszisse in Abb. 2 ist die Dichte des zugegebenen Harns als Konzentrationsmaß ange -

geben. Der Harn von Versuchsreihe I hatte danach unverdünnt die Dichte 1,034, der von Versuchsreihe II die Dichte 1,026. Die Dichte der Verdünnungen wurde errechnet, wobei die Dichte der physiologischen NaCl-Lösung, mit der der Harn verdünnt wurde, unberücksichtigt blieb.

Der Einfluß des Nativharns bis zu mittleren Konzentrationen besteht im plättchenreichen Plasma (Ia, IIa) in einer Erhöhung des me-Wertes. Diese ist, wie Abb. 2 deutlich macht, von der Anwesenheit funktionstüchtiger Thrombozyten abhängig. So zeigen plättchenarme Plasmen (Ib, IIb, IIc) je nach Anzahl und Aktivität der Rest-Thrombozyten weit geringere Erhöhungen von me. In hohen Konzentrationen bewirkt der Harn nativ eine starke Erniedrigung von me bis auf Werte unter 1 im plättchenarmen Plasma. Im plättchenreichen Plasma sind zur Erniedrigung von me auf derart kleine Werte Konzentrationen notwendig, die einer Dichte des Harns von über 1,034 entsprechen. Die Erniedrigung von me ist, wie auch andere Versuche bestätigten, bei niedrigerer Dichte des Nativharns auch weniger stark ausgeprägt oder überhaupt nicht nachweisbar.

Während die Reaktionszeiten bei niedrigen und mittleren Harnkonzentrationen im Ansatz gleich denen des Leeransatzes oder etwas kürzer sind als diese, macht sich bei hohen Harnkonzentrationen parallel zur me-Depression eine starke Reaktionszeitverlängerung bemerkbar (Abb. 3).

Außerdem zeigen die Gerinnselbruchstücke, die man beim Säubern der Küvette erhält, bei

hohen Harnkonzentrationen geleeartige Konsistenz. Diese Konsistenzveränderung wird unter anderem auch dadurch deutlich, daß es gegenüber den Gerinnseln des Leeransatzes nur schwer gelingt, die Gerinnselbruchstücke auf Filterpapier zu kleinen Fibrinkugeln zusammenzurollen. Daraus kann geschlossen werden, daß es sich hier um die von Fröhlich (15) beschriebenen "Uringerinnsel" handelt.

c) Der Einfluß von dialysiertem Harn

Die Dialyse des Harns erfolgte in der oben (S. 18/19) beschriebenen Weise. In zwei Versuchsserien (I, II) wurde jeweils der Einfluß des nativen Harns (Ia, IIa) auf die Gerinnung plättchenarmen Plasmas mit dem seines dialysierten Äquivalentes verglichen. Dazu wurde auch der Vergleich mit einem durch Lyophilisierung fünffach konzentrierten Dialyseharn angestellt. Die Konzentrationsangaben in Abb. 4 geben den Prozentsatz der Menge undialysierbarer Harnsubstanzen an, die sich pro Volumeinheit eines Nativharns mit der Dichte 1,030 findet. Die mit der Dialyse zusammenhängende geringe Volumzunahme wurde in Abb. 4 beim Dialyseharn als Konzentrationsminderung gegenüber dem Nativharn berücksichtigt.

Jede Versuchsreihe wurde jeweils kurz hintereinander mit dem plättchenarmen Plasma einer Venenpunktion angesetzt. Die quantitativen Unterschiede beider Versuchsreihen beruhen zum großen Teil darauf, daß Plasma II im Gegensatz zu Plasma I von Zitratblut stammt, das nicht sofort nach der Venenpunktion, sondern erst nach zwei Stunden 10 Minuten bei 15 000 U/Min. zentrifugiert

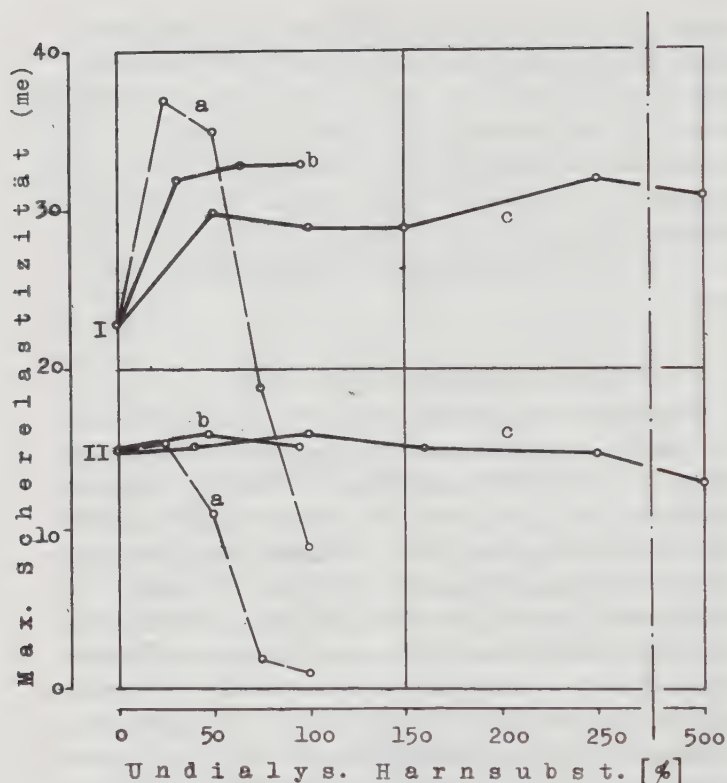


Abb. 4 : Vergleich des Einflusses von Nativ- und Dialyseharn auf den me-Wert gerinnenden plättchenarmen Plasmas.

Plasma: I - gewonnen durch Zentrifugieren gleich nach -
 II - gewonnen durch Zentrifugieren 2 Std. nach der Blutentnahme, plättchenärmer.

Harn: a - nativ, b - dialysiert gegen NaCl phys.,
 c - dialysiert gegen Aqua dest. und lyophilisiert. Trockensubstanz in 1/5 des ursprünglichen Volumens NaCl phys. aufgelöst (fünffache Anreicherung).

Ansatz: entsprechend Abb. 2, Seite 22 .

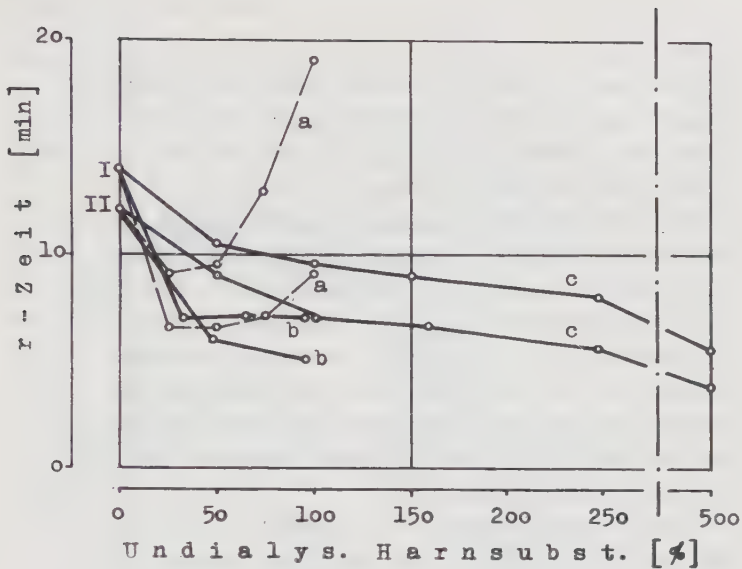


Abb. 5 : Vergleich des Einflusses von Nativ- und Dialyseharn auf die Reaktionszeit (r) gerinnenden plättchenarmen Plasmas.

Erklärung siehe Abb. 4 .

wurde. Plasma II ist also relativ plättchenärmer als Plasma I (vgl. S. 21).

Aus Abb. 4 geht hervor, daß dialysierter Harn (Ib, IIb) wie verdünnter nativer eine plättchenabhängige Erhöhung von η_{sp}/c bewirkt. Im Gegensatz aber zum Nativharn bleibt diese Erhöhung von η_{sp}/c auch bei hohen Konzentrationen (Ic, IIc, fünffache Anreicherung) des Dialyseharns nachweisbar. Auch bei diesen hohen Konzentrationen des Dialyseharns wurde eine geleeartige Konsistenz an den Gerinnseln nicht

beobachtet.

Die Reaktionszeiten werden mit steigender Konzentration der undialysierbaren Substanzen (des Dialyseharns) kürzer, ähnlich wie bei verdünntem Nativharn (Abb. 5).

Von den im TEG nachweisbaren Einflüssen des Nativharns auf die Plasmagerinnung läßt sich also die bei niedrigen Konzentrationen auftretende Erhöhung von η_{sp} und Verkürzung der Reaktionszeit in der Hauptsache undialysierbaren Substanzen zuordnen; die bei hohen Konzentrationen auftretende η_{sp} -Depression und Verlängerung der Reaktionszeit beruht dagegen auf dialysierbaren Substanzen.

Der Flüssigkeitsretentionstest (s. S. 17) ergab mit dialysiertem Harn in allen Konzentrationen Aufsaugzeiten der Gerinnung von unter einer Minute (Abb. 9).

2. Der Einfluß dialysierbarer Substanzen auf die Plasmagerinnung

a) Die Versuchsanordnung

Von den auf Seite 20 angegebenen Substanzen wurden Lösungen hergestellt, die folgende Mengen in 100 ml physiologischer Kochsalzlösung (DAB 6) enthielten: Harnstoff 7g, Kreatinin 0,3g, K_2SO_4 0,88 g, NH_4HCO_3 0,1 g, Na_2HPO_4 1,1 g und NaH_2PO_4 0,2 g. Von diesen Lösungen und den aus ihnen gewonnenen Verdünnungen wurden jeweils 0,13 ml entnommen und mit 0,17 ml plättchenarmem Zitratplasma und 0,05 ml einer 6/40 molaren $CaCl_2$ -Lösung ein Thrombelastogramm angefertigt (vgl. S. 21). Der Beginn der Reaktionszeit lag bei der

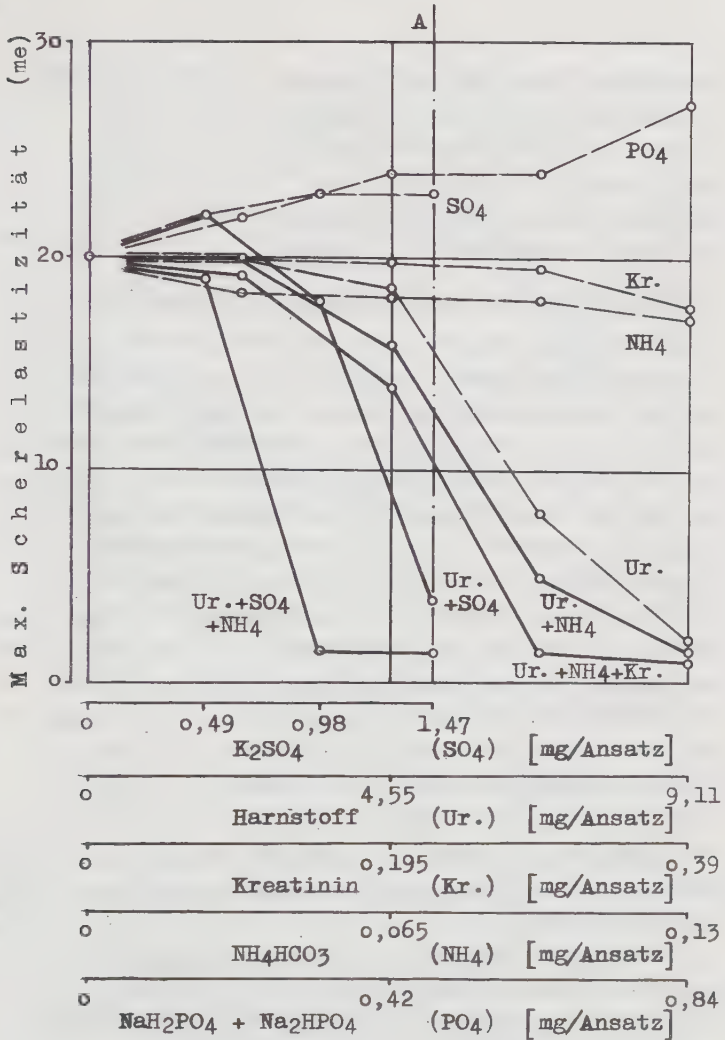


Abb. 6 : Der Einfluß dialysierbarer Harnsubstanzen auf den me-Wert gerinnenden plättchenarmen Plasmas.

Bis Linie A harnphysiologische Mengen.

Ansatz: entsprechend Abb. 2, Seite 22 .

Zugabe der verschiedenen Lösungen. Die Rekalzifizierung erfolgte 30 Sek. später.

Die Konzentrationen in Abb. 6 sind in mg pro Ansatz angegeben. Die mittleren (Linie A) entsprechen etwa den maximalen Mengen, die im konzentrierten Harn gefunden werden.

b) Der Einfluß auf die maximale Scherelastizität (me)

Abb. 6 zeigt den Einfluß der oben genannten Lösungen auf den me-Wert des TEG. Es wird deutlich, daß in dem untersuchten höheren Konzentrationsbereich nur der Harnstoff eine deutliche Erniedrigung von me bewirkt. Kreatinin und Ammoniumbicarbonat erniedrigen verglichen mit dem Leerwert me nur gering. Bemerkenswert ist, daß der Harnstoff seine Wirkung auf me erst oberhalb einer bestimmten Konzentration entfaltet. Allerdings kommt die Menge Harnstoff, die in Abb. 6 notwendig ist, um eine dem hochgestellten Nativharn vergleichbare Erniedrigung von me zu bewirken (vgl. Abb. 2), in diesem gewöhnlich nicht vor. Dies wurde auch durch eigene Harnstoffbestimmungen im Nativharn bestätigt. Es mußte daher geprüft werden, ob eine oder mehrere der anderen genannten Substanzen in einer Lösung mit Harnstoff zusammen dessen Wirkung verstärken.

Tatsächlich bewirken Kreatinin, Ammoniumbicarbonat und besonders Kaliumsulfat eine derartige Verstärkung der Harnstoffwirkung, so daß das Verhältnis der Konzentration dieser Substanzen in der Lösung zu ihrer Wirkung auf me mit dem im Harn möglichen Verhältnis vergleichbar wird.

Außer den undialysierbaren Substanzen (s. Abb. 4) gibt es auch dialysierbare, die den me-Wert erhöhen.

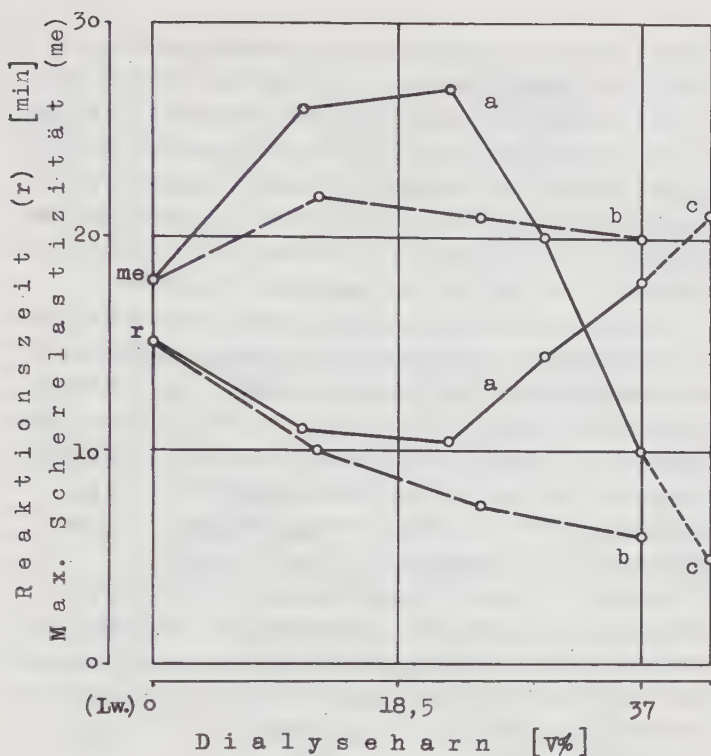


Abb. 7 : Der Einfluß von in Dialyseharn aufgelösten dialysierbaren Harnsubstanzen auf me-Wert und Reaktionszeit (r) gerinnenden plättchenarmen Plasmas.

Lösungen in 100 ml Dialyseharn:

- a - 3,5 g Harnstoff, 0,15 g Kreatinin, 0,88 g K_2SO_4 , 0,05 g NH_4HCO_3 , 0,55 g Na_2HPO_4 und 0,1 g NaH_2PO_4
- b - Dialyseharn rein
- c - 4 g Harnstoff, sonst wie Lösung a.

Ansatz: entsprechend Abb. 2, Seite 22 .

In diesem Sinne wirken sich die Lösungen von primärem und sekundärem Phosphat (pH 7,4) und Kaliumsulfat im TEG aus (Abb. 6). Beim Phosphat ist dies nicht so überraschend, da ihm eine gewisse Rolle als Kofaktor der Retraktion bereits zugeschrieben wird (3). Die Wirkung des Sulfats hingegen muß verwundern, da es ja auch die "Schwelle" erheblich erniedrigt, bei der me auf Harnstoff anspricht.

Um nun zu sehen, in wie weit sich die Wirkungen der den me-Wert erhöhenden und erniedrigenden Substanzen gegenseitig aufheben, wurden die oben angeführten dialysierbaren Stoffe in dialysiertem Harn aufgelöst. Ihre Konzentration entsprach folgenden Mengen in 100 ml Dialyseharn: Harnstoff 3,5 g, Kreatinin 0,15 g, K_2SO_4 0,88 g, NH_4HCO_3 0,05 g, Na_2HPO_4 0,55 g, NaH_2PO_4 0,1 g.

In Abb. 7 zeigt dieser "synthetische" Harn (Kurve a) ganz ähnliche Einflüsse auf den me-Wert und die r-Zeit plättchenarmen Plasmas wie Nativharn. Ein Vergleich mit dem reinen Dialyseharn (Kurve b) unterstreicht diese Feststellung.

c) Der Einfluß auf die Reaktionszeit (r)

Die Abb. 8 zeigt den Einfluß der genannten dialysierbaren Substanzen auf die Reaktionszeit. Es wird deutlich, daß das Phosphat im untersuchten Konzentrationsbereich als einziges keine Wirkung auf die Reaktionszeit besitzt. Kreatinin und NH_4HCO_3 verlängern die Reaktionszeit erst in Konzentrationen, die über den im Nativharn vorkommenden liegen; K_2SO_4 und Harnstoff führen auch schon in harnphysiologischen Mengen zu einer Verlängerung der Reaktionszeit. Wie bei der Beeinflussung des me-Wertes potenzieren sich einzelne Substanzen

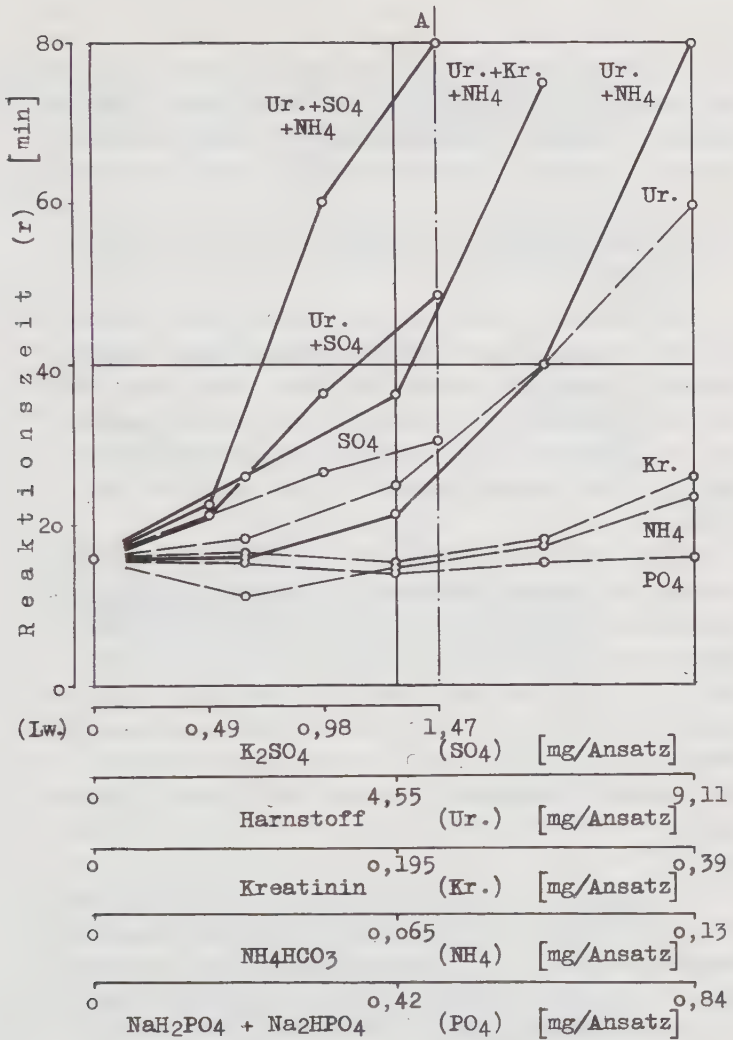


Abb. 8 : Der Einfluß dialysierbarer Harnsubstanzen auf die Reaktionszeit (r) gerinnenden plättchenarmen Plasmas.

Erklärung siehe Abb. 6, Seite 29 .

auch in ihrer Wirkung auf die Reaktionszeit. So führen Harnstoff, Kaliumsulfat und Ammoniumbicarbonat zusammen schon in verhältnismäßig kleinen Konzentrationen zu starker Verlängerung der Reaktionszeit.

d) Der Einfluß auf die Flüssigkeitsretention der Gerinnsel

Die Gerinnselbruchstücke, die man beim Säubern der Küvette nach der Beendigung eines TEGs erhält, zeigen geleeartige Konsistenz immer dann, wenn der me-Wert gegenüber dem Leerwert sehr niedrig war, d.h. bei Anwesenheit von Harnstoff in hoher Konzentration oder in Gemeinschaft potenzierender Substanzen.

Abb. 9 zeigt unter anderem die Flüssigkeitsretentionszeiten von Gerinnseln, die bei verschiedenen Harnstoffkonzentrationen im Ansatz entstanden waren. Die dem Ansatz zugegebene Harnstofflösung enthielt in 100 ml phys. NaCl-Lösung (DAB 6) 3,5 g Harnstoff. In Abb. 9 ist die Konzentration dieser Lösung in Volum-Prozenten des Ansatzes angegeben. Die "Harnstoffgerinnsel" zeigen qualitativ dieselbe verzögerte Flüssigkeitsabgabe wie die "Uringerinnsel".

Gerinnsel, die in Anwesenheit des oben beschriebenen Gemisches von Dialyseharn und dialysierbaren Harnsubstanzen (s.S. 32) entstanden sind, weisen, wie zu erwarten, ebenfalls starke Flüssigkeitsretentionen auf (Abb. 9).

3. Der Einfluß der Urokinase (2, 35) auf die Plas-
magerinnung

Es wurde dem Plasma mit dem Harn ϵ -Aminokapron-
säure (ϵ -ACA) zugesetzt entsprechend einer Menge

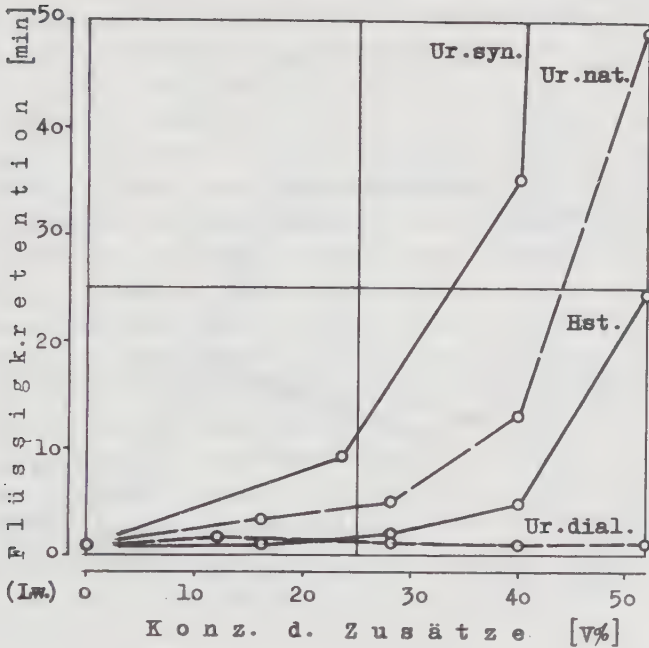


Abb. 9 : Der Einfluß von Nativharn, Dialyseharn und dialysierbaren Harnsubstanzen auf die Flüssigkeitsretention der Gerinnsel.

Ansatz: 0,2 ml Plasma plättchenarm, 2,3 ml NaCl phys. bzw. Zusätze, 0,5 ml CaCl₂ (6/40 m).

Zusätze: Ur.dial. - Dialyseharn
 Ur.nat. - Nativharn, Dichte unverd. 1,030
 Hst. - Harnstofflösung 3,5 g in 100 ml NaCl phys.
 Ur.syn. - Lösung von dialysierbaren Harnsubstanzen in Dialyseharn, wie Lösung a, Abb. 7.

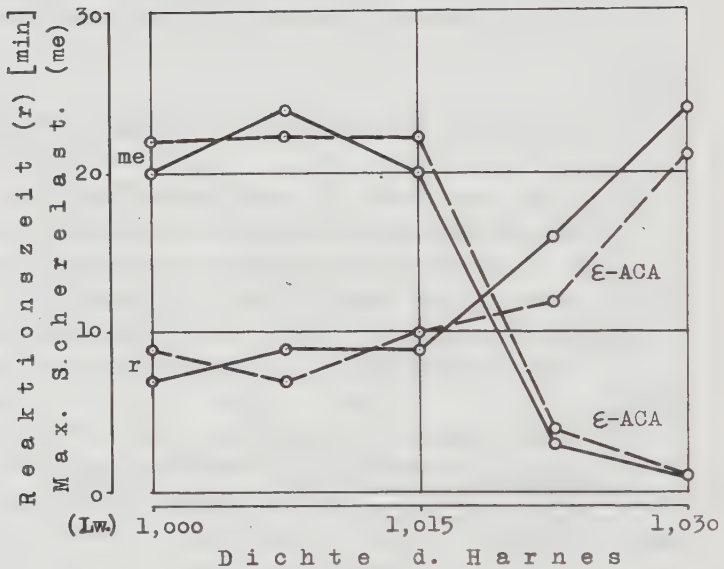


Abb. 10 : Der Einfluß von Nativharn auf das Thrombelastogramm unter Zusatz von ϵ -ACA.

Plasma: ϵ -ACA - Plasma mit ϵ -Aminokapronsäure entsprechend 3,06 g ϵ -ACA auf 100 ml Plasma.

Harn: Nativharn, Dichte unverdünnt 1,030.

Ansatz: 0,17 ml Plasma plättchenarm, 0,13 ml Nativharn, 0,05 ml CaCl_2 (6/40 m).

von 3,06 g ϵ -ACA auf 1 Liter Plasma und der Einfluß der Harnkonzentration auf das TEG gerinnenden plättchenarmen Plasmas mit dem in einer ϵ -ACA-freien Versuchsreihe verglichen (Abb. 10).

Die ϵ -ACA hemmt das durch die Urokinase aktivierte fibrinolytische System. Wenn dieses also an der durch Nativharn bewirkten Erniedrigung von me beteiligt ist, müßte in Anwesenheit von ϵ -ACA die Erniedrigung von me geringer sein. Vorausgesetzt wäre dabei allerdings, daß im vorliegenden Ansatz überhaupt Urokinase wirksam werden kann, denn auch im Plasma befindet sich ein Faktor (4,16,40), der die Urokinase stark hemmt und erst bei erheblichem Urokinaseüberschuß unwirksam wird.

Tatsächlich unterscheidet sich die Wirkung des Nativharns auf me und r in den Versuchsreihen mit und ohne ϵ -ACA nur unwesentlich (Abb. 10). Es deutet also nichts darauf hin, daß das durch Urokinase aktivierte fibrinolytische System bei der Erniedrigung von me durch Nativharn beteiligt ist.

4. Der Einfluß von Hämolytat auf die Plasmagerinnung

a) Die Versuchsanordnung

Von dem Gefrier- und Digitoninhämolytat (Herstellung s. S. 19) wurden Verdünnungsreihen mit NaCl phys. (DAB 6) hergestellt. Dann wurde mit 0,13 ml der einzelnen Verdünnungen, 0,17 ml Plasma (plättchenreich und -arm) und 0,05 ml einer 6/40 m CaCl_2 -Lösung jeweils ein TEG angefertigt. Der Beginn der Reaktionszeit lag bei der Zugabe des Hämolytates, die Rekalkifizierung erfolgte 30 Sekunden später.

Die Konzentrationsangaben in Abb. 11 u. 12 sind

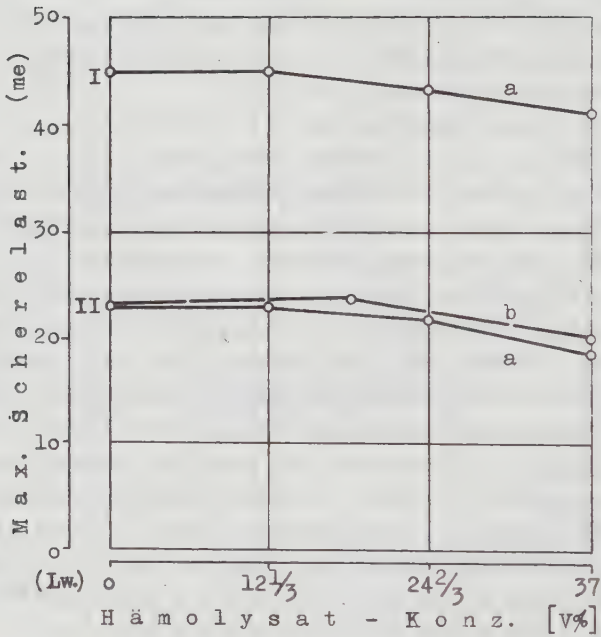


Abb. 11: Der Einfluß von Hämolysat auf den me-Wert gerinnenden Plasmas.

Plasma: I - plättchenreich
II - plättchenarm.

Hämolysat: a - Digitoninhämolysat
b - Gefrierhämolysat.

Ansatz: Abb. 2, Seite 22 entsprechend: statt Harn Hämolysat.

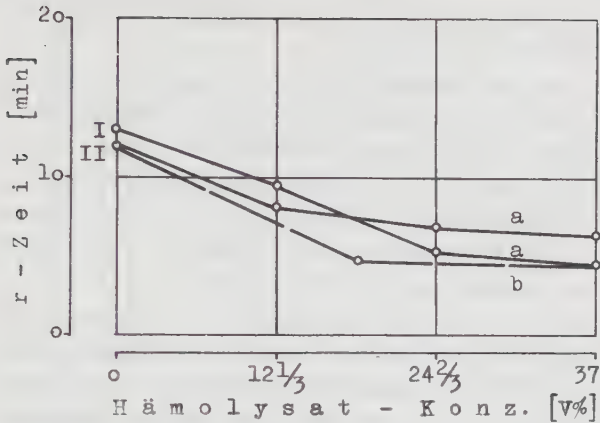


Abb. 12 : Der Einfluß von H ä m o l y s a t auf die R e a k t i o n s z e i t (r) des T E G .

Erklärung siehe Abb. 11 .

Volum-Prozente der Seite 19 beschriebenen Hämolysate, bezogen auf das Ansatzvolumen.

b) Der Einfluß von Hämolysat auf das TEG (Abb. 11 und Abb. 12)

In dem untersuchten Konzentrationsbereich besteht der Einfluß des Hämolysates auf den me-Wert gerinnenden Plasmas nur in einer geringen Erniedrigung, die unabhängig vom Plättchenreichtum des Plasmas ist. Unterschiede im Einfluß von Gefrier- und Digitoninhämolysat fanden sich nicht.

Die Reaktionszeiten werden sowohl durch Gefrier- als auch durch Digitoninhämolysat verkürzt, ebenfalls unabhängig vom Plättchengehalt des Plasmas.

c) Der Einfluß von Hämolysat auf die Flüssigkeitsretention der Gerinnsel

Schon an den Bruchstücken der Hämolysat-Gerinnsel, die nach Beendigung der thrombelastographischen Versuche anfielen, zeigte sich ein Verlust der fädigen Konsistenz, obwohl, nach dem me-Wert zu urteilen, damit nicht zu rechnen war. Durch die Bestimmung der Flüssigkeitsretentionszeit ließ sich diese Beobachtung auch objektivieren.

Aus Abb. 13 ist ersichtlich, daß schon kleine Konzentrationen des Hämolysates im Gerinnsel die Flüssigkeitsretentionszeiten verlängern, und zwar Gefrierhämolysat noch stärker als Digitoninhämolysat. Bei hohen Konzentrationen von Gefrierhämolysat sind die Flüssigkeitsretentionszeiten praktisch unendlich, während sie mit Digitoninhämolysat in hohen Konzentrationen wieder abnehmen. Der Wirkungsunterschied beider Hämolysate hängt wahrscheinlich mit dem verschiedenen Stromagehalt zusammen. Denn, wie erwähnt, blieb das Gefrierhämolysat nach dem Zentrifugieren durch Erythrozytenstroma getrübt (s. S. 19/20). Bei der Bestimmung der Flüssigkeitsretention führt das Stroma dann dazu, daß die Diffusion der im Gerinnsel eingeschlossenen Flüssigkeit weitgehend verhindert wird.

Beiden Hämolysaten gemeinsam ist noch eine eigenartige Wirkung auf die Konsistenz der Gerinnsel, die sich bei denen mit Digitoninhämolysat oberhalb einer kritischen Konzentration auch in einer Abnahme der Flüssigkeitsretention äußert. Die Gerinnsel bestanden oberhalb dieser kritischen Hämolysatkonzentration aus einer bröcklig-breiigen Masse, während sie sich bei niedrigerer Hämolysatkonzentration im Ansatz als glatte Thromben aus dem Röhrchen kippen ließen.

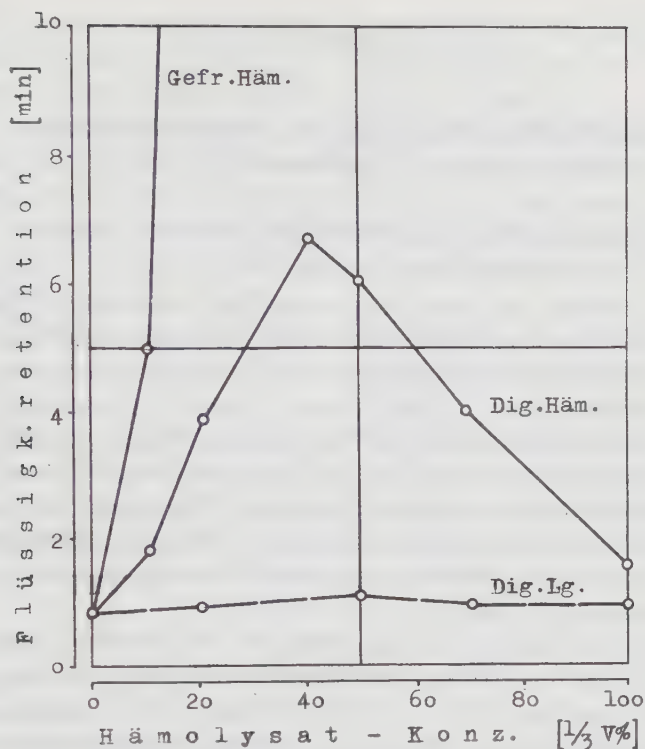


Abb. 13 : Der Einfluß von Hämoly sat auf die Flüssigkeitsretention der Gerinnsel.

Ansatz: Siehe Abb. 9, Seite 35

Zusätze: Gefr.Häm. - Gefrierhämoly sat, stroma-haltig

Dig.Häm. - Digitoninhämoly sat, stroma-frei

Dig.Lg. - Digitoninlösung, 0,11 g Digitonin in 100 ml NaCl phys.

Oberhalb einer Hämoly sat-Konzentration von 50/3 V% im Ansatz zeigen die Gerinnsel bröcklig-breitige Konsistenz.

D. DISKUSSION

1. Diskussion der Ergebnisse unter gerinnungs- physiologischen Gesichtspunkten

a) Die Erhöhung der maximalen Scherelastizität gerinnenden Plasmas durch Harn

Sowohl im dialysierten wie auch im nativen Harn befinden sich Substanzen, die in Abhängigkeit von der Thrombozytenzahl den me-Wert von Plasmagerinn-
seln erhöhen (s. Abb. 2 u.4). Diese gerinnselfe-
stigende Aktivität ist im dialysierten Harn etwas
geringer als im nativen. Das erklärt sich daraus,
daß bei der Dialyse mit Phosphat und Sulfat Sub-
stanzen aus dem Harn entweichen, die in harnphysio-
logischen Konzentrationen eine Erhöhung von me be-
wirken (s. Abb. 6).

Es wurde oben schon erwähnt (s.S. 32), daß das
Phosphat als Retraktionsfaktor bereits beschrieben
worden ist : S o k a l (46) erhält mit Ansätzen
aus Fibrinogen, Thrombin, Ca-Ionen, gewaschenen
Plättchen und Phosphat normale TEGs, während phos-
phatfreie Ansätze nur niedrige me-Werte bringen.
B a l l e r i n i und S e e g e r s (3) weisen
mit der Retraktion im Glase bei Zugabe von Phosphat
zu einem Gemisch aus Fibrinogen, Thrombin, Ca-Ionen
und Plättchen das gleiche Retraktionsausmaß nach
wie bei Zugabe eines Plasmadialysates. Bei Zugabe
von NaCl phys. bleibt die Retraktion aus.

In beiden Untersuchungen erweist sich die Wir-
kung des Phosphates als plättchenabhängig. Dies be-
stätigen auch die Ergebnisse der vorliegenden Ar-
beit. Der gerinnselfestigende Einfluß des Phosphates,

der bei der Gerinnung plättchenarmen Plasmas noch feststellbar ist (Abb. 6), kann durch die Anwesenheit von Restthrombozyten erklärt werden.

Über den Wirkungsmechanismus des Phosphates kann jetzt nur gesagt werden, daß er in irgendeiner Beziehung zur Thrombozytenfunktion steht, und damit das Phosphat einen Einfluß auf die Kräfte der Lateralassoziatio~~n~~ des dritten Polymerisationsschrittes besitzt (vgl. S. 14ff.).

Hinweise auf die Gerinnungsaktivität von Sulfat finden sich in der eingesehenen Literatur nicht. Allerdings ist man im Zusammenhang mit der Erforschung der Retraktionsfaktoren auf einige schwefelhaltige Verbindungen gestoßen, die in einem Gerinnungsansatz aus Fibrinogen, Thrombin, Ca-Ionen und gewaschenen Plättchen Retraktion beziehungsweise eine Erhöhung des η_{sp}/c -Wertes hervorrufen.

S o k a l (46) beschreibt eine plättchenunabhängige Erhöhung von η_{sp}/c durch Glutathion und Cystin in ganz geringen Konzentrationen; H a r t e r t und Mitarb. (19) erhalten ähnliche Ergebnisse unter anderem mit Thioglycolat. Die Wirkung dieser Substanzen bringt man mit der aus anderen Beobachtungen hervorgegangenen Vermutung in Zusammenhang, daß es sich bei der "strukturhomologen Lateralassoziatio~~n~~" (s.S. 14 ff.) um die Ausbildung von S-S-Brücken handelt. Es ist möglich, daß die Wirkungsweise des Sulfates der der anderen schwefelhaltigen Verbindungen ähnlich ist.

Auch undialysierbare Substanzen mit Wirkung auf η_{sp}/c -Wert und Retraktion sind beschrieben worden :

S o k a l (46) präpariert eine Albuminfraktion des Serums, die eine plättchenunabhängige Gerinnselfestigung im TEG mit Fibrinogen, Thrombin und Ca-Ionen bewirkt. Auch ein Ultrafiltrat des Serums

erhöht me stärker als ein Gemisch der Serumelektrolyte allein.

B a l l e r i n i und S e e g e r s (3) beschreiben eine an BaCO_3 adsorbierbare, undialysierbare Plasmaeiweiß-Komponente, die die Retraktion im Glase mit Fibrinogen, Thrombin, Ca-Ionen und Plättchen ähnlich fördert wie ein Plasmazusatz.

Eine Identifizierung dieser Eiweißfraktionen mit den hier beschriebenen und ihrer Wirkung nach ähnlichen undialysierbaren Substanzen des Harns war im Rahmen dieser Arbeit nicht möglich.

b) Die Erniedrigung der maximalen Scherelastizität gerinnenden Plasmas durch Harn

Nach den in dieser Arbeit vorliegenden Untersuchungen sind die Substanzen, die bei hoher Konzentration des Nativharns eine Erniedrigung des me-Wertes von Plasmagerinnnnseln hervorrufen, dialysierbar (s. Abb. 4).

Es wird gezeigt, daß der Harnstoff, potenziert durch Kreatinin, Ammoniumbicarbonat und Kaliumsulfat (in harnphysiologischen Konzentrationen), eine wie auch durch Harn bewirkte starke me-Depression hervorruft.

Eine Beteiligung der Urokinase und der durch sie aktivierten Fibrinolyse ist auf Grund entsprechender Versuche unwahrscheinlich (s. Abb. 10).

Da der Harnstoff erst oberhalb einer bestimmten von den potenzierenden Faktoren abhängigen Konzentration eine me-Depression bewirkt, wird verständlich, daß auch der Harn diese Eigenschaft besitzt.

Über den Wirkungsmechanismus des Harnstoffs gibt es bereits eine genauere Vorstellung. Durch Untersuchungen von S h u l m a n und Mitarb. (44),

F e r r y und Mitarb. (11) und S o h e r a g a und Mitarb. (42) weiß man, daß der Angriffspunkt des Harnstoffs im ersten Polymerisationsschritt (vgl. S. 14 ff.) liegt. Aus den Ergebnissen verschiedener physikalischer Methoden (Bestimmung der Sedimentationskonstanten, Viskositäts- und Streulichtmessung) haben diese Autoren geschlossen, daß in Lösungen mit sinkenden Mengen von Fibrinogen-Thrombin in Anwesenheit von Harnstoff die "intermediären Fibrinogenketten" bei kritischem Protein-Harnstoff-Verhältnis dissoziieren. Die Dissoziation geht schließlich so weit, daß nur noch die Fibrinogenfäden vorliegen. Das kritische Konzentrationsverhältnis von Fibrinogen und Harnstoff wird allerdings bei Anwesenheit von Ca-Ionen und FSF (fibrin-stabilisierender Faktor (28, 31, 32)) so verschoben, daß für ein bestimmtes Dissoziationsausmaß eine größere Harnstoffmenge notwendig wird. Ganz ähnlich dissoziieren die "intermediären Fibrinogenketten" bei pH unter 6, hoher Ionenstärke und Hexamethylenglycol (44).

K ö p p e l (27) konnte die Dissoziation der "intermediären Fibrinogenketten" bei pH 5,8 auch elektronenoptisch nachweisen. Vergleichende thrombelastographische Versuche desselben Autors zeigen bei einem pH unter und um 6 im Ansatz aus Fibrinogen, Thrombin und Ca-Ionen einen starken Abfall von me. Es ist deshalb anzunehmen, daß sich im TEG die Hemmung des ersten Polymerisationsschrittes in einem Verlust der Gerinnselfestigkeit ausdrückt.

Als Folge der Hemmung des ersten Polymerisationsschrittes durch die genannten Faktoren deuten die elektronenoptischen Beobachtungen von K ö p p e l (27) für die weiteren Polymerisationsschritte eine Modifizierung an, die er "Fibrinkette" nennt.

Dieser abartige Polymerisationsmodus besteht darin, daß, nachdem eine End-zu-End-Verbindung der Fibrinogenfäden (vgl. Seite 14 ff.) verhindert wird, sie sich längsseits aneinanderlagern und dadurch mehr oder weniger lange Ketten bilden. Es erfolgt also unter Umgehung des ersten gleich ein modifizierter zweiter Polymerisationsschritt.

Es kann angenommen werden, daß die Ausbildung eines dreidimensionalen Fibringerüstes durch die "Fibrinkette" unmöglich ist, da nach dem bisherigen Wissen die Voraussetzungen für den dritten Polymerisationsschritt gar nicht mehr gegeben sind (vgl. Seite 14 ff.). Dies drückt sich nicht zuletzt im TEG in einem weitgehenden Verlust der Gerinnsel-festigkeit aus. Die Änderung anderer physikalischer Gerinnsелеigenschaften durch Hemmung des ersten Polymerisationsschrittes, wie Verlust der Opaleszenz und erhöhtes Flüssigkeitsbindungsvermögen, sind als weitere Charakteristika der Polymerisationsmodifikation schon beschrieben worden (15).

Nun deuten aber die Streulichtmessungen von Fröhlich (15) sowie die eigenen Untersuchungen (Abb. 6) darauf hin, daß der Harnstoff allein für die durch Harn bewirkte, der "Fibrinkette" äusserst ähnliche Polymerisationsmodifikation nicht verantwortlich gemacht werden kann. Es muß vielmehr an einen Urinfaktor (13) bzw. an eine Verstärkung der Harnstoffwirkung durch andere Substanzen gedacht werden, so daß auch im konzentrierten Harn vorhandene Harnstoffmengen zu der Polymerisationsänderung führen können. Durch die vorliegenden Untersuchungen hat sich dies auch bestätigen lassen (s. Abb. 6).

Über den Mechanismus der Potenzierung des Harnstoffs durch Kreatinin, Ammoniumbicarbonat und Ka-

liumsulfat können nur Vermutungen geäußert werden. Besondere Beachtung gebührt wohl dabei dem Sulfat, das in einer Lösung mit Harnstoff zusammen den weit-aus größten Potenzierungseffekt der drei Substanzen besitzt. Außerdem ist es dadurch ausgezeichnet, daß es in einer Lösung allein eine Festigung der Gerinn-sel bewirkt.

Zur Erklärung der eigenartigen Wirkungsweise des Sulfates kann vielleicht daran gedacht werden, daß durch Sulfat die Lateralassoziation allgemein ge-fördert wird. In Anwesenheit von Harnstoff könnte das dann zu einer leichteren Ausbildung der "Fibrin-kette" führen.

Es muß nun noch auf die Frage eingegangen wer-den, warum sich die me-Depression bei plättchenrei-chem Plasma erst mit sehr viel höheren Harnkonzen-trationen einstellt als bei plättchenarmem Plasma.

Einen Hinweis geben die elektronenoptischen Be-obachtungen von K ö p p e l (27), nach denen die Dissoziation der "intermediären Fibrinogenketten" bei pH 5,8 in der Umgebung der Thrombozyten aus-bleibt, während sie in einiger Entfernung von den Thrombozyten voll zur Geltung kommt.

c) Der Einfluß des Harns auf die Reaktionszeit gerinnenden Plasmas

Der Nativharn enthält Substanzen, die die Re-aktionszeit der Plasmagerinnung verkürzen, und an-dere, die sie verlängern. Die thromboplastisch wir-kenden Substanzen sind im Gegensatz zu den anderen undialysierbar. Es dürfte sich dabei um das "throm-boplastische" Material handeln, das von der Arbeits-gruppe um v . K a u l l a (7,25) näher unter-sucht worden ist. Diesen Autoren zufolge besitzt das "thromboplastische" Material alle Eigenschaften

einer Thrombokinase.

Es hat sich gezeigt, daß im nativen Harn die "thromboplastische" Aktivität fast vollständig durch die Wirkung dialysierbarer Substanzen überlagert wird (s. Abb. 3). Sie tritt daher in den Reaktionszeiten des TEG gar nicht oder nur bei niedrigen Konzentrationen des Nativharns in Erscheinung. Im Dialyseharn ist sie dagegen voll nachweisbar (s. Abb. 5).

Die in der vorliegenden Arbeit untersuchten dialysierbaren Substanzen (Kreatinin, Ammoniumbicarbonat, Kaliumsulfat) verlängern fast alle die Reaktionszeit (s. Abb. 8) der Plasmagerinnung. Nur das Phosphat verhält sich neutral. Bemerkenswert ist auch hier, daß sich die einzelnen Substanzen, insbesondere Sulfat und Harnstoff, in ihrer Wirkung gegenseitig steigern. Über den Mechanismus, der dem Einfluß der dialysierbaren Substanzen auf die Reaktionszeit zugrunde liegt, kann an Hand der Rekalzifizierungstechnik des TEG nichts näheres gesagt werden. Eine gewisse Rolle spielen sicher die Verschiebung des für die Gerinnung optimalen Ionenmilieus und die Hemmung des ersten Polymerisationsschrittes (s. Seite 44 ff.).

Eine genauere Analyse ist vielleicht mit Hilfe der Bestimmung von Thromboplastinzeit, Thrombinzeit und Prothrombinverbrauch möglich.

d) Der Einfluß des Hämolysates auf gerinnendes Plasma

Die auffallendste Wirkung des Hämolysates im TEG ist die Verkürzung der Reaktionszeit (s. Abb. 12). Entsprechende Ergebnisse liegen auch von Q u i c k (39a,b) vor, der außerdem eine Erhöhung des Prothrombinverbrauchs feststellte.

D e s m e t und Mitarb. (8) fanden, daß die Aktivität des Hämolysates weitgehend mit der des Plättchenfaktors 3 identisch ist. Das Hämolysat greift also ihren Untersuchungen nach in die Bildung der Thrombokinase ein.

Hat das Hämolysat auf die Polymerisation des Fibrins bei einem Plasma-Hämolysat-Verhältnis, wie es im TEG-Ansatz vorliegt, nur einen geringen Einfluß (Abb. 11), so müssen doch die verlängerten Flüssigkeitsretentionszeiten bemerkenswert erscheinen (s. Abb. 13). Dazu kommt, daß die Gerinnsel aus stark verdünntem Plasma, wie sie zur Bestimmung der Flüssigkeitsretention verwendet werden, schon bei verhältnismäßig niedriger Hämolysat-Konzentration bröcklig-breiige Konsistenz zeigen, wobei die Flüssigkeitsretention wieder abnimmt.

Eine Deutung dieser Ergebnisse ist zur Zeit nur unvollkommen möglich. Die erhöhte Flüssigkeitsretention läßt sich mindestens zu einem Teil mit der erheblichen Viskosität des Hämolysates erklären. Die Diffusionsgeschwindigkeit des Hämolysates im Gerinnsel und im Filterpapier ist ja sicher niedriger als die etwa einer Kochsalzlösung. Es kann aber wohl auch eine erhöhte Flüssigkeitsbindung des Gerinnsels angenommen werden.

Bei höherer Hämolysat-Konzentration und der bröcklig-breiigen Konsistenz der Gerinnsel liegt offensichtlich ein Gerinnungsdefekt vor, der der geringeren Flüssigkeitsretention nach mit der durch Harn bewirkten Polymerisationsänderung nicht identisch ist. Vielleicht steht der Effekt des Hämolysates mit seinen kolloidosmotischen Eigenschaften in Zusammenhang.

2. Die Diskussion der Ergebnisse unter dem Gesichtspunkt der Zylinderbildung in der Niere

a) Zur Frage der Gerinnungsförderung und Gerinnungshemmung des Harnes

Es ist aus der vorausgegangenen Diskussion ersichtlich, daß die Frage nach Gerinnungsförderung und Gerinnungshemmung eines derart komplexen Stoffes, wie es der Harn ist, nicht im Sinne eines Entweder-Oder beantwortet werden kann. Zunächst ist es notwendig, die Grenzen der angewandten Methoden in Betracht zu ziehen, um zu vermeiden, daß man die Definition von Gerinnungsförderung und -hemmung auf den Ausdruck beschränkt, den sie in einer einzigen Methode finden.

Wenn daher im TEG ein me-Wert von 1 nicht erreicht wird, kann man daraus nicht ohne weiteres schließen, daß keine Gerinnung mehr stattgefunden hat. Viskositätsmessungen würden dem vielleicht ganz widersprechen. Eine Zusammenschau der Ergebnisse mehrerer Methoden, wie etwa von denen aus TEG und Flüssigkeitsretention, ermöglicht eine Vermeidung solcher Fehldeutungen weitgehend.

Es sei auch darauf hingewiesen, daß die Ergebnisse einer Methode, in der praktisch der ganze Gerinnungsablauf registriert wird (TEG und Streulichtmessung), keineswegs immer den eindeutigen Schluß auf Gerinnungshemmung und -förderung zulassen. So ist es z.B. beim Einfluß von Kaliumsulfat möglich, daß mit steigender Konzentration die Reaktionszeiten und der me-Wert zunehmen. Der eine Meßwert deutet eine "Gerinnungshemmung" der andere eine "Gerinnungsförderung" an. Man sieht daran, daß der kritiklose Gebrauch diese Begriffe ad absurdum führt.

Im übrigen darf wohl als selbstverständlich angenommen werden, daß Gerinnungsförderung und Gerinnungshemmung in jedem Falle von der Konzentration des zugegebenen Stoffes abhängig sind. Der Harn ist hierfür ein gutes Beispiel.

b) Über die Bedingungen zur Beteiligung einer Plasmagerinnung an der Entstehung der Harnzylinder

Das Problem ist im folgenden auf die Bildung der hyalinen Zylinder eingeschränkt worden, da die geringe Opaleszenz der "Uringerinnsel" besonders auf die große Ähnlichkeit mit den hyalinen Zylindern hinweist. Nach J. Frey (12) ist außerdem anzunehmen, daß eine Fibrinogen-Fibrin-Gerinnung auch bei der Bildung anderer Zylinderformen beteiligt ist.

In den proximalen Abschnitten des Tubulussystems werden Substanzen rückresorbiert, die im Endharn gewöhnlich nicht erscheinen, wie z.B. Glucose. Der Harn ist hier mit dem Blut nahezu isotonisch und besitzt denselben pH-Wert wie das Blut (30, 41). Eine Gerinnung auch von sehr kleinen Mengen Plasma ist hier zwar möglich, wird aber kaum zu einer Zylinderbildung führen können. Das Gerinnsel würde nämlich unter diesen Bedingungen normale niedrige Flüssigkeitsretention und normale fädige Konsistenz aufweisen und sehr schnell rein mechanisch zerstört werden können. Außerdem besäße es ein ganz anderes Aussehen als die hyalinen Zylinder.

Die Bedingungen zur Bildung von "Uringerinnseln" sind vielmehr in den distalen Tubuli gegeben. Hier erfolgt die Rückresorption des Wassers,

hier wird der endgültige pH-Wert des Harns eingestellt, wobei ein umfangreicher Ionenaustausch und unter Umständen eine starke Ammoniak- bzw. Ammoniumbildung stattfinden.

Im Verlauf des distalen Tubulus könnte es möglich werden, daß das Verhältnis der Konzentrationen von Plasma, Harnstoff und den seine Wirkung potenzierenden Substanzen in Zusammenhang mit den beschleunigenden Faktoren eine Gerinnung zuläßt. Eine besondere Rolle spielt dabei der saure pH-Wert, der ja eine regelmäßig auftretende Bedingung zur Zylinderbildung darstellt.

Nicht nur, daß der saure pH-Wert ebenfalls einen dem Harnstoff gleichartigen Einfluß auf die Plasmagerinnung besitzt, er vergrößert auch die Viskosität des Harnes (37) und verkleinert so die Strömungsgeschwindigkeit im Tubulus.

Außerdem könnte die hemmende Wirkung des sauren pH auf die fibrinolytische Aktivität des Harnes zur Klärung der Frage beitragen, warum gerade er die Zylinderbildung derart begünstigt. Man könnte nämlich annehmen, daß die Urokinase bei alkalischem pH-Wert, bei dem sie ihr Wirkungsoptimum besitzt, eine Gerinnung verhindert, wenn sie gegenüber dem Plasma in großem Überschuß vorhanden ist (Plasma-Hemmfaktor! (4, 16, 40)). Bei saurem pH (wenig unter und um pH 6) aber wäre eine Gerinnung wegen des Aktivitätsverlustes der Urokinase möglich.

Auch könnte ein gewisser Zusammenhang zwischen der Aktivität der Urokinase und der des Uropepsins bestehen. Natürlich ist auch die Aktivität des Uropepsins vom pH abhängig. Bei pH-Werten unter 4 wird z.B. die Urokinase sehr schnell durch Uropepsin inaktiviert (26). Bei weniger saurem pH dauert

es länger. Immerhin könnte auch an eine Beteiligung des Uropepsins an der Inaktivierung der Urokinase gedacht werden, zumal die Uropepsinogen-Ausscheidung im Stress sehr ansteigt (49). Der Stress aber kann eine klinische Bedingung zur Zylinderbildung darstellen.

Das Hämolysat spielt bei der Zylinderbildung im Rahmen des akuten Nierenversagens eine Rolle, wenn dieses auf einem hämolytischen Geschehen beruht. Unter anderem auf Grund einer Arbeit von Shimamine (43) ist der Theorie von der toxischen Schädigung der Niere durch Hämolysat die der Obturation der Tubuli durch gefällttes Hämoglobin entgegengestellt worden (vgl.(5)). Die Obturation, die auch die Anurie erklärt, hat er bei Kaninchen unter diätetischer Azidurie und Wassermangel nachgewiesen, wenn er den Tieren Hämolysat parenteral verabreichte.

Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit zeigen, daß auch die Bedingungen zur Beteiligung einer Plasmagerinnung bei der Bildung der Hämoglobin-Zylinder gegeben sind. Die Hämolysat-Gerinnsel weisen nämlich eine erhöhte Flüssigkeitsbindung auf, was im Tubulus dazu führen würde, daß ein Zylinder das in ihm eingeschlossene Wasser nicht an das resorbierende Epithel abgibt. Eine Obturation des betreffenden Tubulus wird auf diese Weise leicht vorstellbar.

E. ZUSAMMENFASSUNG

1. Versuchsanordnung

Es wird in der ersten Versuchsserie der Einfluß des Harns von klinisch gesunden Männern auf das Thrombelastogramm und die Flüssigkeitsretention der Gerinnsel geprüft. Der Einfluß des Nativharns wird verglichen

- a) mit dem Einfluß dialysierten Harns (auch fünffach konzentriert durch Lyophilisierung) und
- b) mit dem Einfluß dialysierbarer Substanzen des Harns (Harnstoff, Kreatinin, Ammoniumbicarbonat, Kaliumsulfat, prim. und sek. Natriumphosphat).

In der zweiten Versuchsserie wird der Einfluß von Hämolysat auf die Plasmagerinnung mit denselben Methoden untersucht.

2. Ergebnisse

Der native Harn erhöht in niedrigen Konzentrationen die maximale Scherelastizität von Plasmagerinnseln in Abhängigkeit von der Größe der Thrombozytenzahl gegenüber dem Leerwert mit NaCl phys.. Die Reaktionszeit (r) wird dabei verkürzt.

In hohen Konzentrationen bewirkt der Nativharn eine starke Erniedrigung der maximalen Scherelastizität (me) und eine ebenso starke Verlängerung der Reaktionszeit und Flüssigkeitsretentionszeit.

Der dialysierte Harn führt, auch fünffach konzentriert, nur zur Erhöhung von me und der Verkürzung der Reaktionszeit. Die Flüssigkeitsretention der Gerinnsel wird durch dialysierten Harn nicht beeinflusst.

Während die "thromboplastische" Aktivität (Verkürzung der Reaktionszeit) des Harns weitgehend aufgeklärt ist, ist über undialysierbare Harn-

substanzen mit gerinnselfestigender Wirkung bisher nichts bekannt geworden. Die Identität mit ähnlich wirkenden Plasma- und Serumfraktionen ist möglich.

Für Erniedrigung von η_{sp} und Verlängerung von Reaktions- und Flüssigkeitsretentionszeit sind dialysierbare Harnsubstanzen verantwortlich. Von den untersuchten dialysierbaren Substanzen hat nur der Harnstoff eine dem hochkonzentrierten Harn vergleichbare Wirkung auf TEG und Flüssigkeitsretention. Im TEG-Ansatz sind für diese Wirkung (η_{sp} -Depression, r -Verlängerung) allerdings Harnstoffkonzentrationen notwendig, die über denen des Harns liegen. Erst in Anwesenheit von Kreatinin, Ammoniumbicarbonat und besonders Kaliumsulfat ist der Harnstoff auch in harnphysiologischen Mengen wie hochkonzentrierter Nativharn wirksam. Eine Beteiligung der durch Urokinase aktivierten Fibrinolyse an der Erniedrigung von η_{sp} konnte ausgeschlossen werden.

Die starke Erniedrigung des η_{sp} -Wertes ist wahrscheinlich Ausdruck einer Polymerisationsmodifikation des Fibrins, wie sie für Harnstoff, Hexamethylenglycol, hohe Ionenstärke und pH unter 6 beschrieben worden ist. Über die Art, in der die Harnstoffwirkung durch die genannten Substanzen potenziert wird, kann zur Zeit nichts gesagt werden.

Der Einfluß des Hämolysates auf das TEG besteht in einer Verkürzung der Reaktionszeit und einer nur geringen Erniedrigung von η_{sp} . Die Flüssigkeitsretentionszeit wird bis zu einer kritischen Konzentration des Hämolysates verlängert und nimmt darüber wieder ab.

Die "thromboplastische" Aktivität (Verkürzung der Reaktionszeit) des Hämolysates ist bekannt. Sie besteht in einer Beschleunigung der ersten Phase der Blutgerinnung (Bildung der Thrombokinese). Für die erhöhte Flüssigkeitsretention mag zum Teil die hohe Viskosität des Hämolysates verantwortlich sein.

In Zusammenhang mit der Zylinderbildung in der Niere betrachtet, zeigen die Ergebnisse, daß die Bedingungen zur Beteiligung einer Plasmagerinnung an der Zylinderbildung in den distalen Tubulusabschnitten durchaus gegeben sein können. Durch die Anwesenheit von Hämolysat werden die Bedingungen einer Plasmagerinnung im Harnmilieu noch sehr verbessert.

F. S C H R I F T T U M

1. Addis, T. : a) J. clin. invest. 2: 409 (1925/26)
b) J. amer. med. Assoc. 85:163 (1925)
2. Astrup, T., J. Sterndorff : Proc. Soc. exp. Biol.
(N.Y.) 81: 675 (1952)
3. Ballerini, G., W. H. Seegers : Thromb. Diath.
Haem. 3: 147 (1959)
4. Beller, F.K., P. Glas : Thromb. Diath. Haem.
5: 531 (1961)
5. Büchner, F. : Allgemeine Pathologie, 4. Auflage
München-Berlin 1962, S. 114-117
6. Burmeister, Th. : Virchow Archiv 137: 430 (1894)
Nr. 3
7. Caldwell, M.J., K.N.v. Kaulla, E.v. Kaulla,
W.H. Seegers : Thromb. Diath. Haem. 9: (1963)
Nr. 1/2
8. Desmet, V. und Mitarb. : Thromb. Diath. Haem.
1: 459 (1957)
9. Ebbecke, V., F. Knüchel : Pflügers Arch. ges.
Phys. 243: 54 (1939)
10. Ernst, P. : Zieglers Beitr. 12: 553 (1893)
11. Ferry, J.D., S. Shulman, J.F. Foster : Arch.
Bioch. 39: 387 (1952)
12. Frey, J. in : Heilmeyer, L., Lehrbuch der inneren
Medizin, Bln.-Gött.-Heidelberg 1961
13. Frey, J., J. Jürgens : Med. Klin. 59: 560 (1964)
14. Frey, W. in : Bergmann, G.v., W. Frey, H. Schwiegl,
Handb. d. inneren Medizin, Bd. 8,
Bln.-Gött.-Heidelberg 1951
a) S. 559, b) S. 407, c) S. 74
15. Fröhlich, G. : Inaug. Diss., Frankfurt/M. 1965
16. Gormsen, J. : Acta med. scand. 172: 657 (1962)

17. Groß, W. : Zieglers Beitr. 51: 528 (1911)
18. Hartert, H. : a) Klin. Wschr. 26: 577 (1948)
b) Klin. Wschr. 28: 77, 78 (1950)
c) Zschr. ges. exp. Med. 117: 186
(1951)
19. Hartert, H., G. Lasch, J. Pfisterer :
Thromb. Diath. Haem. 1: 445 (1957)
20. Henke, F., Lubarsch, O. : Handb. d. spez. patho-
logischen Anatomie u. Histologie, Bd. 6
Bln.-Gött.-Heidelberg 1925
21. Hoff, F. : Klinische Physiologie und Pathologie,
Stuttgart 1957
22. Hösslin, H.v. : Klin. Wschr. 7. Jahrg. II. Hj.
(1928) Nr. 40
23. Israel, O. : Virchow Arch. 123: 328 (1891)
24. Jackson, H. : Amer. J. Path. 3: (1927) Nr. 3
25. Kaulla, K.N.v. : Proc. Soc. exp. Biol. 91: 543
(1956)
26. Kickhöfen, B., F.E. Struwe, B. Bramesfeld,
O. Westphal : Bioch. Zschr. 330: 467 (1958)
27. Köppel, G. : Die Umwandlung von Fibrinogen in
Fibrin, Stuttgart 1962 (Thromb. Diath. Haem.
Suppl. 2 zu 7)
28. Laki, K., L. Lorand : Science 108: 280 (1948)
29. Lehmann, C.J. : Virchow Arch. 36: 125 (1866)
Hft. 1
30. Lehnartz, E. : Einführung in die chemische Phy-
siologie, 11. Aufl. Bln.-Gött.-Heidelberg 1959
31. Lorand, L. : Nature (London) 166 II: 694 (1950)
32. Lorand, L., A. Jacobson : J. Biol. Chem. 230: 421
(1958)

33. Lubarsch, O. : Ztrbl. allg. Path. u. pathol.
Anat. 4: 209 (1893)
34. Markert : C. r. Soc. Biol. Paris 113: 957, 962
(1933)
35. McFarlane, R.G., J.Pilling : Nature (London)
(1947) 779
36. Noltenius, H., P.v. Dittrich : Atlas der Nieren-
biopsie Stuttgart 1962
37. Posner, C. : Ztschr. f. Urol. 15: (1921)
38. Quensel, U. : Nord. med. Ark. 50, Avd.II (Ark.
inre Med.): 319 (1918)
39. Quick, A.J. : a) Amer. J. med. Science 239:
(1960) Nr. 1
b) Amer. J. med. Science 228:
(1954) Nr. 2
40. Rabiner, S., K. Robbins : Proc. Soc. exp. Biol.
(N.Y.) 111: 701 (1962)
41. Rein, H., Schneider, M. : Einführung in die Phy-
siologie des Menschen, 13./14. Aufl.
Bln.-Gött.-Heidelberg 1960
42. Scheraga, H.A., J.K. Backus : J. amer. chem.
Soc. 74: 1979 (1952)
43. Shimamine, T. : Beitr. path. Anat. 116: 330 (1956)
44. Shulman, S., P. Ehrlich, J.D. Ferry : J. amer.
chem. Soc. 73: 1388 (1951)
45. Shulman, S., J.D. Ferry, J. Tinoco : Arch. Bioch.
Biophys. 42: 245 (1953)
46. Sokal, G. : Klin. Wschr. 37: 718 (1959)
47. Suzuki, T. : Die Morphologie der Nierensekretion
Jena 1912
48. Weigert, K. : Dtsch. med. Wschr. (1875) Nr. 44
49. Westphal, O., O. Lüderitz, W. Keiderling :
Ztschr. f. Naturfshg. 6 b: 309 (1951)

L E B E N S L A U F

Geboren am 7. Februar 1939 in Gotha/Thüringen.

Vater: Dipl. Ing. Fritz Schroeder, gest. 1959.

Mutter: Irmgard, geb. Regely.

Drei Brüder der Jahrgänge 1929, 1936 und 1940.

Bildungsgang: 1945 - 1951 Einheitsschule in Gotha. Im Oktober 1951 Übersiedlung nach der Bundesrepublik. Zwei Monate Notunterkunft in Referinghausen im Sauerland und Besuch des Progymnasiums Medebach, danach Umzug nach Buchen im Odenwald. Im Januar 1952 Eintritt in das Burghardt-Gymnasium in Buchen in Klasse Quinta. Nach dem Umzug der Familie nach Frankfurt (Main), Leerbachstraße 62, im Juni 1955 besuchte ich das Burghardt-Gymnasium weiter bis zur Reifeprüfung Ostern 1959.

Mit dem Sommersemester 1959 Beginn des Medizinstudiums in Frankfurt (Main). Naturwissenschaftliche Vorprüfung im Wintersemester 1959/60 und Ärztliche Vorprüfung im Sommersemester 1961 in Frankfurt abgelegt. Meldung zur Ärztlichen Prüfung im Januar 1965.

Frankfurt am Main, 27. 1. 1965

W. Schroeder

V E R Z E I C H N I S M E I N E R A K A D E - M I S C H E N L E H R E R

Prof. Dr. B. Rajewsky	Biophysik
Prof. Dr. R. Thiel	Augenheilkunde
Prof. Dr. K. Wezler	Physiologie
Prof. Dr. K. Herzberg	Hygiene, Bakterio- logie
Prof. Dr. F. Hoff	Innere Medizin
Prof. Dr. P. Holtz	Pharmakologie, Toxikologie
Prof. Dr. R. Geißendörfer	Chirurgie
Prof. Dr. J. Zutt	Neurologie, Psychiatrie
Prof. Dr. R. Mittermaier	Hals-, Nasen-, Ohrenheilkunde
Prof. Dr. D. Starck	Anatomie
Prof. Dr. J. v. Reckow	Zahn-, Mund-, Kieferheilkunde
Prof. Dr. E. Guntz	Orthopädie
Prof. Dr. F. Herrmann	Dermatologie
Prof. Dr. W. Rotter	Pathologie
Prof. Dr. W. Artelt	Medizinhistorik
Prof. Dr. E. Heinz	Vegetative Physio- logie
Prof. Dr. J. Frey	Innere Medizin
Prof. Dr. W. Krücke	Neuropathologie
Prof. Dr. O. Käser	Frauenheilkunde, Geburtshilfe
Prof. Dr. J. Gerchow	Gerichtsmedizin
Prof. Dr. H. Frick	Anatomie
Prof. Dr. F. Strnad	Röntgendiagnostik
Prof. Dr. K. Pirlet	Naturheilkunde
Prof. Dr. G. Kahlau	Pathologie

Prof. Dr. H. Betke	Arbeitsmedizin
Prof. Dr. H. Hildebrand	Innere Medizin
Prof. Dr. P. Duus	Neurologie, Psychiatrie
Prof. Dr. K. Greven	Physiologie
Prof. Dr. W. Schroeder	Physiologie
Prof. Dr. J. Jürgens	Innere Medizin
Prof. Dr. B. Leiber	Kinderheilkunde
Prof. Dr. K. Weiße	Kinderheilkunde
Prof. Dr. A.W. Schwenzer	Frauenheilkunde, Geburtshilfe
Prof. Dr. L. Róka	Physiologie, Phy- siologische Chemie
Prof. Dr. H. Cramer	Frauenheilkunde, Geburtshilfe
Prof. Dr. E. Ungeheuer	Chirurgie
Prof. Dr. G. Leonhardi	Dermatologie
Prof. Dr. R. Altmann	Innere Medizin
Prof. Dr. L. Heller	Frauenheilkunde, Geburtshilfe
Prof. Dr. W. Hellriegel	Med. Strahlenkunde
Prof. Dr. K.L. Radenbach	Innere Medizin
Prof. Dr. R.K. Zahn	Physiologie, Phy- siologische Chemie
Prof. Dr. O. Grüner	Gerichtliche und soziale Medizin
Prof. Dr. C. Kulenkampff	Neurologie, Psychiatrie
Prof. Dr. H. Martin	Innere Medizin
Prof. Dr. H. Zimmermann	Pathologie
Prof. Dr. G. Rossberg	Hals-, Nasen-, Ohrenheilkunde
Prof. Dr. E. Landes	Dermatologie
Prof. Dr. E. Westermann	Pharmakologie, Toxikologie

Prof. Dr. P. Christ	Innere Medizin
Prof. Dr. W. Lieb	Augenheilkunde
Prof. Dr. G. Wilhelm	Kinderheilkunde
Prof. Dr. J.E. Otto	Augenheilkunde
Prof. Dr. P. Royen	Anorganische Chemie
Prof. Dr. Th. Wieland	Organische Chemie
Prof. Dr. K. Egle	Botanik
Prof. Dr. W. Halbsguth	Botanik
Prof. Dr. H. Giersberg	Zoologie
Prof. Dr. H.A. Müser	Physik
Prof. Dr. W. Ried	Organische Chemie
Priv.Do. Dr. H.K. Brehm	Frauenheilkunde, Geburtshilfe
Priv.Do. Dr. W. Weber	Chirurgie, Urologie
Priv.Do. Dr. H.H. Hirsch	Chirurgie
Priv.Do. Dr. F. Kootz	Chirurgie

EHRENWÖRTLICHE ERKLÄRUNG

Ich erkläre ehrenwörtlich, daß ich die der Medizinischen Fakultät Frankfurt/Main zur Promotionsprüfung eingereichte Arbeit mit dem Titel

"Thrombelastographische Untersuchungen über den Einfluß von Humanurin auf die Plasma Gerinnung"

im Gerinnungslabor der II. Medizinischen Universitätsklinik in Frankfurt/Main unter der Leitung von Herrn Prof. Dr. med. J. Jürgens ohne sonstige Hilfe selbst durchgeführt und bei der Abfassung der Arbeit keine anderen als in der Dissertation angeführten Hilfsmittel benutzt habe.

Ich habe bisher an keiner in- und ausländischen Medizinischen Fakultät ein Gesuch um Zulassung zur Promotion eingereicht noch die vorliegende Arbeit als Dissertation vorgelegt.

Frankfurt am Main, den 27. 1. 1965

W. Schroeder

